ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1984 N° 57

ÉTUDE D'UN MODÈLE EXPÉRIMENTAL DE CHIMIOTHÉRAPIE ANTICANCÉREUSE : XÉNOGREFFES DE CANCERS RECTO-COLIQUES HUMAINS CHEZ LA SOURIS « NUDE »

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE DIPLÔME D'ÉTAT

présentée et soutenue publiquement en 1984
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse
par

COQ Jacques, Georges, Fernand

Né le 29 avril 1955 à Paris

Jury :

Président : M. FOURTANIER
Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs : M. CABANIÉ
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. VAN HAVERBEKE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

LIBRARY
EXCHANGE

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1984 N° 57

ÉTUDE D'UN MODÈLE EXPÉRIMENTAL DE CHIMIOTHÉRAPIE ANTICANCÉREUSE : XÉNOGREFFES DE CANCERS RECTO-COLIQUES HUMAINS CHEZ LA SOURIS « NUDE »

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE DIPLÔME D'ÉTAT

présentée et soutenue publiquement en 1984
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse
par

COQ Jacques, Georges, Fernand

Né le 29 avril 1955 à Paris

Jury :

Président : M. FOURTANIER
Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs : M. CABANIÉ
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. VAN HAVERBEKE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	M. LAUTIE
Directeur honoraire	M. FLORIO
Professeurs honoraires	MM. BRIZARD SAURAT GODFRAIN

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire	Mme BURGAT-SACAZE
Maître-Assistant	M. PETIT

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire	MM. RICO
Professeur sans chaire	BRAUN
Maître-Assistant Agrégé	BENARD

Physique Biologique et Médicale
Chimie Biologique et Médicale
Informatique Biologique et Médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire	MM. PAVAUX
Maître-Assistant Agrégé	LIGNEREUX
Maître-Assistant Agrégé	SAUTET

Organogénèse - Tératologie
Anatomie Générale - Anatomie Appliquée

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE, PHARMACODYNAMIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire	MM. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire	FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé	TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie - Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire	MM. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire	CABANIE
Maître-Assistant Agrégé	MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique - Clinique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire	MM. LABIE
Maître de Conférences	EECKHOUTTE
Maître-Assistant Agrégé	Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des denrées alimentaires d'origine animale - Clinique

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire	MM. DORCHIES
Maître de Conférences	FRANC
Maître-Assistant Agrégé	DUCOS DE LAHIT

Zoologie appliquée - Ecologie - Parasitologie externe
Dermatologie - Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES ET DE LEGISLATION

Professeur titulaire	MM. LESCURE
Professeur sans chaire	GUELFI
Maître-Assistant Agrégé	REGNIER

Sémiologie et Pathologie Médicale
des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire	MM. TOURNUT
Maître de Conférences	BEZILLE
Maître-Assistant	JOUGLAR
Maître-Assistant	SCHELCHER

Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des Animaux de Basse-Cour
Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire	MM. CAZIEUX
Maître de Conférences	GENEVOIS
Maître-Assistant Agrégé	AUTEFAGE
Maître-Assistant	FAYOLLE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale - Radiologie
Technique chirurgicale - Anesthésiologie
Pathologie Chirurgicale - Traumatologie
Podologie orthopédique - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire	MM. FERNEY
Professeur sans chaire	ROYAL
Maître-Assistant	BERTHELOT

Pathologie de l'appareil génital et de la mamelle
Sémiologie et Propédeutique
Pathologie de la Reproduction - Obstétrique et
Pathologie du nouveau-né - Clinique
Consultation itinérante

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire	MM. CHANTAL
Maître-Assistant	PICAVET
Maître-Assistant	LACHERETZ

Epidémiologie - Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire	MM. LAUTIE
Maître de Conférences	EUZEBY
Maître-Assistant	MILON

Microbiologie - Immunologie - Pathologie Générale

CHAIRE D'ELEVAGE ET ECONOMIE

Professeur titulaire	MM. QUEINNEC
Professeur sans chaire	DARRE
Maître-Assistant	Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique Animale - Extérieur
Zootechnie et Economie Générales
Ethologie appliquée, Sciences, Techniques,
Economie de l'Elevage et des Productions Animales
Insémination artificielle - Organisation de l'Elevage

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire	MM. FALIU
Professeur sans chaire	GRIESS
Maître-Assistant	ENJALBERT

Botanique appliquée et Bromatologie
Agronomie - Alimentation

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 Mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 Juin 1924).

A MON PERE ...

A MA MERE

A CORINNE

A CLEMENCE

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR FOURTANIER, DE L'UNIVERSITE PAUL SABATIER DE TOULOUSE,

qui, après avoir manifesté un vif intérêt envers les xénogreffes de cancers humains chez la souris "Nude", n'a pas hésité à distraire une part de son temps pour nous permettre de les effectuer dans les meilleures conditions.

Enfin, il nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR CABANIE, DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE,

qui nous a guidés tout au long de l'élaboration de cette thèse, avec sa bienveillance et son enthousiasme habituels.
Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre sincère gratitude et de notre respectueuse amitié.

MONSIEUR LE PROFESSEUR VAN HAVERBEKE, DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE,

dont les conseils précieux et les critiques bienveillantes ont puissamment aidé à la réalisation de ce travail.
Qu'il veuille bien accepter ici l'expression de notre vive reconnaissance et de notre respectueuse amitié.

J'adresse mes plus sincères remerciements

à Monsieur R. RONCUCCI, Directeur des Recherches du Groupe SANOFI , *qui a permis la réalisation de cette thèse,*

et à toutes celles et tous ceux du Centre de Recherches SANOFI de TOULOUSE, grâce à qui ce travail a pu être mené à bien, et plus particulièrement

à Monsieur R. de JAGER,

qui m'a permis de préparer au mieux cette thèse au sein de la Ligne Oncologie, en me témoignant confiance et intérêt ;

à Monsieur P. GROS,

qui m'a encouragé et soutenu dans la poursuite de ce travail ;

à Madame O. PEPIN,

convaincue de l'utilité d'un modèle de xénogreffes humaines chez la Nude, elle a été à l'origine de ce travail, et m'a aidé à le réaliser dans les meilleurs conditions, sans ménager son temps ni ses conseils . J'ai, de plus, toujours trouvé auprès d'elle un accueil amical, un soutien bienveillant et un appui scientifique enrichissant et rigoureux ;

à Madame J. FOURNIER,

dont les nombreux conseils, les critiques constructives et l'aide efficace me furent précieux ;

à Madame L. LESPY,

qui s'est chargée avec gentillesse et efficacité de toutes les techniques histologiques ;

à Mademoiselle N. AUSSET et Madame F. Le ROHELLEC,

qui ont accepté avec le sourire le travail supplémentaire représenté par la frappe de cette thèse.

Je tiens enfin à remercier amicalement Monsieur D. CORPET, (INRA - TOULOUSE) *qui a bien voulu distraire une part de son temps pour me familiariser à la technologie des isolateurs et à la maintenance des souris Nude.*
Ses conseils et critiques avisés m'ont permis d'optimiser les procédures de maintenance de ces animaux.

S O M M A I R E

INTRODUCTION

I - LA SOURIS GENETIQUEMENT ATHYMIQUE "NUDE"

1°) Historique

2°) Génétique et Obtention

3°) Immunologie :

a) Rappels de l'Ontogénèse de l'Immunité à Médiation Cellulaire

b) Athymisme de la souris nude

c) Conséquences sur les organes lymphoïdes secondaires

d) Caractéristiques de la population lymphocytaire

e) Immunité humorale

f) Activité "Natural Killer" (NK) et cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC pour Antibody-Dependant cell-mediated cytotoxicity)

g) Activité macrophagique

4°) Utilisation en cancérologie

a) les xénogreffes et leurs traitements

b) Carcinogénèse

5°) Pathologie

6°) Maintenance

II - LES CANCERS RECTO-COLIQUES HUMAINS

1°) Epidémiologie

a) Fréquence

b) Répartition

c) Localisation anatomique en Occident

2°) Etiologie

a) Rôle de l'environnement

b) Rôle des facteurs lésionnels

- 1 - Les polypes néoplasiques

- 2 - Les lésions inflammatoires

3°) Symptomatologie

4°) Anatomie pathologique

5°) Cinétique

6°) Caractéristiques cellulaires-Hétérogénéité

7°) Diagnostic

8°) Evolution - Pronostic

9°) Traitement

III - MATERIEL

1°) Animaux

2°) Drogues antitumorales (5 Fluorouracile et Cyclohexyl-Chloroéthyl-Nitroso urée) : Mode d'action et toxicité chez la souris nude

3°) Cancers recto-coliques

IV - METHODES

1°) Prélèvement

2°) Greffe

3°) Chimiothérapie

4°) Passages en série

5°) Techniques histologiques

6°) Caryotype

7°) Paramètres, Mesures et Observations

a) Prise tumorale

b) Seuil de toxicité des drogues

c) Mesures

d) Jour d'évaluation finale

V - RESULTATS

1°) Transplantations

a) Transplantations de tumeurs "fraîches"

b) Transplantations de tumeurs conservées par le froid

2°) Chimiothérapie

3°) Morphologie

a) Etude Macroscopique

- Tumeurs "contrôles"
- Tumeurs "traitées"

b) Etude Microscopique

- Tumeurs "contrôles"
- Tumeurs "traitées"

4°) Invasion locale et régionale, Métastases

5°) Cinétique de croissance

6°) Mortalité et Affections intercurrentes

VI - DISCUSSION

CONCLUSION

INTRODUCTION

Cette étude a pour but le développement et la maîtrise d'un modèle expérimental de chimiothérapie anti-cancéreuse, en vue d'évaluer l'activité potentielle de nouvelles molécules (*).
Ce modèle est représenté par l'entretien de tumeurs malignes humaines greffées chez des souris "Nude", et par l'étude de leur chimiosensibilité.

L'appréciation initiale de l'intérêt thérapeutique des différentes drogues se fait classiquement par "screening" (ou "criblage") , c'est-à-dire par un ensemble de tests d'activité antitumorale.Ce sont par exemple des tests d'activité sur le clonage de cellules tumorales humaines in vitro (test de SALMON), sur les lignées de tumeurs murines greffées chez des souris de souche définie, sur des greffes de tumeurs humaines sous la capsule rénale de souris (test de BOGDEN (12)),sur des xénogreffes de tumeurs humaines chez des animaux immunodéprimés ou chez la souris athymique "Nude".

Sont considérées comme activités antitumorales in vitro l'inhibition de croissance de cultures cellulaires tumorales, et in vivo la diminution du volume de la tumeur greffée ou l'augmentation du temps médian de survie, chez les animaux traités.

Cette activité antitumorale expérimentale sera ensuite confrontée aux résultats de l'activité clinique, chez l'homme.

A partir de ces confrontations, on définira :

- des résultats "vrais positifs" : cas où l'activité expérimentale d'une drogue est confirmée par une activité clinique comparable.

(*) Ce travail a été accompli dans le Service de Pharmacologie (Chef de Service : Mme O. PEPIN), de la Ligne Oncologie (Chef de Ligne :Mr R.DE JAGER), au Laboratoire SANOFI RECHERCHE, 195 Route d'Espagne 31035 TOULOUSE Cédex

- des résultats "faux positifs" : l'activité expérimentale n'est pas confirmée par l'activité clinique;

- des résultats "vrais négatifs" : il n'existe ni activité expérimentale, ni activité clinique;

- des résultats "faux négatifs" : il n'existe pas d'activité expérimentale, mais on observe une activité clinique.

Le but de tout "screening" est d'obtenir des rapports $\frac{\text{vrais positifs}}{\text{faux positifs}}$ et $\frac{\text{vrais négatifs}}{\text{faux négatifs}}$ les plus élevés possible (109-249).

Notre modèle expérimental sera constitué par la greffe, et le passage en série, de cancers recto-coliques humains chez des souris athymiques Nude qui seront ensuite traitées par des drogues à activité clinique connue : le 5 Fluorouracile (5-FU) et le Cyclohexyl-Chloroéthyl-Nitroso-urée (CCNU). Ce choix se justifie pour plusieurs raisons :

- La souris athymique Nude ne développe pas de rejet de greffe.

- Elle permet une bonne croissance de la tumeur implantée et la conservation de ses diverses caractéristiques biologiques.

- Il n'existe pas d'hybridation entre les cellules tumorales humaines et les cellules murines.

- Les cancers recto-coliques quant à eux se caractérisent sur le plan clinique par leur haute fréquence, la forte mortalité qu'ils provoquent, et par leur résistance notoire à la chimiothérapie.

Utilisés comme xénogreffes chez la souris Nude, ces cancers ont, avec les mélanomes, le taux de prise tumorale le plus élevé (65 à 70 %) (187, 233), et le temps de latence (partie non exponentielle de leur courbe de croissance) parmi les plus courts (10 à 14 jours en moyenne, (213)).

Dans ce type de cancers humains, le 5-FU est la drogue qui donne les résultats cliniques les moins mauvais, et le CCNU, agent moins utilisé, aurait une activité non négligeable (23,24,170,171,172,267).

Dans un premier temps nous cherchons à valider ce modèle en utilisant ces médicaments anticancéreux reconnus. Puis nous espérons l'utiliser dans le cadre d'un programme de screening de nouveaux agents antitumoraux. Le 5-FU et le CCNU constitueront ainsi des éléments de référence auxquels l'activité des drogues testées pourrait être comparée.

Mais pour être validé, et donc utilisable, ce modèle "tumeur humaine/souris "Nude" doit répondre à deux exigences :

- La constance des caractéristiques de la souris Nude

- L'absence au cours des passages successifs de dérivé aussi bien de la morphologie ou de la cinétique pour les tumeurs "contrôles" et "traitées", que de la chimiosensibilité à un traitement donné pour les tumeurs "traitées".

L'étude de ce modèle nous amènera ainsi à envisager dans une première partie l'étude de la souris Nude, principalement de son immunologie et de sa maintenance.

Dans une deuxième partie nous rappellerons des notions d'épidémiologie, d'étiologie, de symptomatologie, d'anatomie pathologique, de diagnostic, de pronostic et de traitement des cancers recto-coliques.

Nous décrirons ensuite le matériel utilisé et les méthodes choisies . Ceci fera respectivement l'objet de la troisième et quatrième partie .

Les résultats de cette expérimentation et leur discussion nous permettront, dans une cinquième et dernière partie, de savoir si les deux exigences précitées ont été satisfaites.

N.B. : La bibliographie ayant servi à la présentation résumée des généralités concernant la souris Nude et les cancers recto-coliques humains sera indiquée au niveau des têtes de paragraphe. Par contre, elle sera située dans le texte lorsqu'elle concernera des connaissances plus détaillées.

I - LA SOURIS GENETIQUEMENT ATHYMIQUE NUDE

1°) HISTORIQUE

Des souris mutantes nues furent observées pour la première fois en 1962 (108). FLANAGAN (56), en I966, fit leur description détaillée et démontra que la mutation était autosomale et récessive. Il lui donna le nom de "nude", symbole "nu".

PANTELOURIS (193), en I968, découvrit l'absence de thymus chez les homozygotes (nu/nu). Elle les rend immunodéficients et affecte leur durée de vie ainsi que leur fertilité (201).

Cette absence d'immunité à médiation cellulaire fut rapidement exploitée dans le cadre des greffes, en raison de l'absence de rejet qu'elle entraîne.

2°) GENETIQUE ET OBTENTION (52, 75, 81, 85, 126, 128,240)

Les deux caractères : absence de pelage et athymisme, sont toujours liés (mutation pleïomorphique), ce qui rend facile la reconnaissance des homozygotes par leur phénotype nu.

L'exploitation du gène nude se fait en deux phases :

- Etablissement d'une colonie de production du gène de manière homozygote, par accouplement de ♂nu/nu X ♀nu/nu, qui nécessitent des conditions de maintenance draconiennes,

- Introduction et maintien du gène à l'état homozygote dans différentes souches. La souche Swiss NIH est celle que nous avons utilisée.

Notons enfin que cette mutation n'est pas spécifique de la souris, et a été également découverte chez le rat, par exemple (52).

3°) IMMUNOLOGIE

a) Rappels de l'ontogénèse de l'Immunité à Médiation Cellulaire : (6, 7, 35, 74, 76, 119, 146, 153, 155, 165, 197, 224, 234, 237, 243, 245, 287, 294).

Il est établi depuis plusieurs années déjà que le développement de l'immunité à Médiation Cellulaire est thymo-dépendant (fonction T). Des cellules hémato-poïétiques multipotentes de la Moelle Osseuse, dérivent les cellules souches lymphocytaires, qui se différencient en lymphocytes B et T.

On ne sait actuellement pas si la séparation des deux lignées, B et T, est due au hasard (les cellules souches lymphocytaires qui passent par le thymus étant à l'origine de la lignée T) ou à la prédétermination du devenir de ces cellules souches, dès leur production dans la Moelle Osseuse ("précurseurs pré-thymiques").

"Précurseurs pré-thymiques" pour certains, cellules "Natural Killer" (NK, cf paragraphe f) pour ceux qui mettent en doute cette pré-détermination, ces cellules se différencient en deux temps : tout d'abord par contact avec l'épithélium thymique (ce sont alors des précurseurs post-thymiques), puis sous l'action des hormones thymiques. Devenues des lymphocytes T matures, elles peuvent exercer leurs diverses fonctions après sollicitations antigéniques.

Ainsi les lymphocytes T cytotoxiques sont-ils considérés comme les principaux participants du rejet d'une allogreffe ou d'une xénogreffe (qui proviennent respectivement d'un donneur de même espèce ou d'espèce différente).

b) Athymisme de la Souris Nude (30, 31, 33, 100, 110, 191, 193, 197, 303)

Il s'agit en fait d'une dysgénésie thymique plutôt que d'une agénésie vraie. Elle résulte d'une anomalie de développement de la partie ectoblastique, au 11ème jour de la vie embryonnaire. A cette anomalie de l'ectoblaste peut être reliée la dysgénésie pileuse.

Si des rudiments de thymus peuvent apparaître chez le foetus, ils ne deviennent jamais pleinement lymphoïdes et prennent un aspect fibro-kystique après la naissance. On parle alors du "complexe dysgénétique thymique", qui se révèle totalement dépourvu de la structure et de l'activité hormonale du thymus.

c) Conséquences sur les organes lymphoïdes secondaires : (167, 271)

Leurs zones T-dépendantes sont pauvres en lymphocytes et les centres germinatifs des follicules lymphoïdes sont peu, ou pas, organisés.

d) Caractéristiques de la population lymphocytaire : (6, 9, 10, 63, 107, 115, 116, 117, 121, 124, 131, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 154, 163, 164, 177, 194, 195, 202, 220, 221, 224, 225, 226, 227, 228, 237, 238, 243, 244, 246, 251, 274, 283, 284, 293, 303)

Les lymphocytes de la Nude sont presque exclusivement des cellules B, en quantité équivalente à celle présente chez les souris sauvages (non mutantes).

Mais la souris Nude possède des populations non négligeables de cellules précurseurs de lymphocytes T, des précurseurs pré-thymiques

surtout, et des précurseurs post-thymiques. Ces précurseurs post-thymiques ont une courte durée de vie, et leur origine n'est pas élucidée. Leur maturation peut être initiée, expérimentalement ou accidentellement, par différents facteurs :

- allo ou xénogreffe de thymus : le greffon est peuplé par les précurseurs de la Nude, et la périphérisation des cellules est décelable.

- transfusion de facteurs ou de cellules thymiques

- action d'allo-antigènes

- présence in vitro de facteurs non spécifiques (lipopolysaccharides, polynucléosides)

- infection par le MHV (Virus de l'Hépatite Murine)

Une greffe de thymus permet de restaurer en partie au moins la fonction T de la Nude :

- formation de Rosettes en présence d'hématies ovines,

- transformation lymphoblastique en présence de Phytohémagglutinin ou de Concanavaline A,

- rejets de greffe, d'une manière plus longue et parfois anormale, facilités par apport de complément ou d'interleukine 2.Notons que l'interleukine 2, lymphokine à action amplificatrice, peut être produite par les cellules précurseurs de la Nude sous l'action de thymosine ou de stimuli antigéniques (xénogreffes,antigènes d'Helminthes par exemple).

e) Immunité humorale : (10, 49, 134, 150, 196, 303)

Elle est aussi affectée par la dysgénésie thymique, d'une manière indirecte. Il n'y a pas en effet de lymphocytes T "amplificateurs" ni "helper", ce qui entraîne des taux sériques d'Ig A et d'Ig G inférieurs à la normale; par absence de cellules T "suppressives", les taux d'Ig M sont plus élevés.

Cette immunité humorale permet à la souris Nude de répondre convenablement à des stimuli antigéniques espacés dans le temps, mais la réponse s'effondre si ces stimulations deviennent trop fréquentes.

f) Activité "Natural Killer" (NK) et Cytotoxicité à Médiation Cellulaire Dépendante des Anticorps (ADCC, pour Antibody-Dependant Cell-Mediated Cytotoxicity) : (7, 27, 82, 83, 84, 86, 92, 93, 94, 99, 114, 129, 130, 285, 286)

Ce sont des réactions immunitaires élaborées par des cellules dont l'appartenance à la population lymphocytaire est discutée. Elles ne possèdent en effet aucun marqueur de surface des cellules T, ni immunoglobulines de membrane ou récepteurs du complément des cellules B.

Les cellules NK, assimilables pour certains aux "précurseurs prethymiques", se trouvent dans la rate, le sang, les ganglions lymphatiques. Elles manifestent in vivo une cytotoxicité vis à vis de cellules cancéreuses viro-induites ou non cancéreuses, sans sensibilisation préalable ni présence d'anticorps ou de complément. In vivo elles diminuent le taux de prise et la croissance d'un greffon tumoral et s'attaquent aux cellules métastasiques. On leur attribue le rôle principal dans la "surveillance immunitaire" (Théorie de Burnet).

Chez la Souris Nude, l'activité NK débute à 4 semaines d'âge, le pic se situe entre la 8ème et la 10ème semaine, puis elle décroît lentement.

Point primordial, cette activité NK est beaucoup plus prononcée chez la Souris Nude que chez les Souris sauvages, et l'est plus aussi chez la Nude élevée dans des conditions conventionnelles que quand elle l'est en enceinte protégée. En effet, différents facteurs peuvent augmenter cette activité, tels les stimuli antigéniques (Corynebactérium parvum,MHV ...), l'Interféron ou ses inducteurs. Elle est fortement diminuée par greffe de thymus ou injection de thymosine.

Aussi un meilleur développement de la greffe tumorale peut-il être obtenu en déprimant l'activité NK par le cyclophosphamide par exemple, et surtout en utilisant des Souris Nude les plus jeunes possible .

L'activité ADCC est de moindre importance chez ces animaux : les cellules "K" ("killer"), responsables de l'ADCC, se trouvent dans la rate et les ganglions lymphatiques des animaux immunodéficients thymiques, de la Souris ou du Rat Nude, des animaux thymectomisés ainsi que des enfants présentant une carence thymique. Elles détruisent, même en l'absence de complèment, des cellules cibles recouvertes d'anticorps (Ig G) sur lesquels elles se fixent par leurs récepteurs FC ; les cellules cibles sont de nature variée (hématies xénogéniques par exemple). Dans certains cas les cellules B, les Macrophages et Monocytes, les cellules T, peuvent aussi exercer cette activité dont le rôle semble mal cerné.

g) Activité Macrophagique : (26,279)

Elle est prononcée chez la Souris Nude et semble être le principal mode de protection contre les virus (MHV par exemple), ce qui compense pour une faible part l'absence de fonction T.

En conclusion, si la Souris Nude présente une profonde dysgénésie thymique, elle n'est pas totalement déficiente en fonction T : les cellules précurseurs peuvent, expérimentalement du moins, franchir quelques étapes de leur maturation, sous l'action de facteurs spécifiques ou non spécifiques.

Mais l'action différentiatrice des facteurs spécifiques ne peut être réalisée complètement d'une façon naturelle ; quant à celle des facteurs non spécifiques elle n'a pas été prouvée in vivo. Le risque de différentiation des précurseurs le plus probable reste l'infection par le MHV, masqué mais présent chez les souris normales (le personnel chargé de la maintenance pouvant alors jouer le rôle de vecteur). Cependant la maturation des précurseurs ainsi provoquée ne pourrait aboutir, car cette infection est fatale pour les Souris Nude. Enfin, n'oublions pas que les xénogreffes peuvent induire l'ébauche de leur rejet en stimulant la production d'interleukine 2 par les cellules précurseurs de la Nude ...

L'immunodéficience T de cet animal se révèle donc stable. En vue des xénogreffes, l'âge des souris et l'absence stricte de facteurs antigéniques exogènes font partie des paramètres qui conditionnent la prise et la croissance du greffon tumoral.

La maintenance de ces animaux doit ainsi assurer leur protection contre les agents infectieux et leurs antigènes.

4°) UTILISATION EN CANCEROLOGIE

a) Les xénogreffes et leurs traitements

Dès la découverte de son immunodéficience T, la souris Nude a été utilisée comme hôte d'allo- et de xénogreffes. Le terme de greffe, utilisé ci-après, sera pris dans le sens suivant : greffe suivie de prise et de développement du greffon, sans

rejet ultérieur : donc "greffe réussie".

- I969 : greffe de peau de souris, de rat (239)

- I969 à I975 : greffes d'organes de reptiles, d'oiseaux,de félins (156), de rongeurs (253), d'homme (215)

- I969 : Ière greffe de tumeur humaine, un adénocarcinome colique, passée en série 79 fois en 9 ans par la suite (242)

- I972 : Ière greffe de cellules tumorales humaines cultivées in vitro auparavant (66)

- I974 : greffe de tumeurs non humaines (tumeurs canines diverses) (185)

- I975 : établissement d'une lignée tumorale humaine in vitro après 1 passage chez la Nude (161)

: présentation des résultats du Ier essai de chimiothérapie d'une xénogreffe de cancer humain (212)

- I977 à I978 : listes des tumeurs humaines transplantées et maintenues par passage en série (216, 269)

- I979 : incorporation de la souris Nude dans la panoplie du screening primaire du National Cancer Institut (72). La lignée tumorale humaine MX-1 (cancer mammaire) est la seule à y être actuellement utilisée comme xénogreffe (A. GOLDIN, comm. pers.

Les modes de préparation du ou des greffons, comme leurs voies d'inoculation, sont variés : que ce soient des fragments, des homogénats, des broyats, des cultures cellulaires, et qu'ils

soient injectés par voie sous-cutanée, intra-musculaire, intra-péritonéale, intra-veineuse, intra-crâniale, intra-oculaire, sous la capsule rénale... les résultats sont dans l'ensemble,si ce n'est identiques, tout au moins comparables entre eux.

Si la souris Nude peut héberger un grand nombre de tumeurs malignes et assurer leur croissance sans phénomène de rejet, il faut cependant noter que des tumeurs bénignes faiblement proliférantes n'ont pas poussé chez cet animal, d'après I. DUGA (42).

De plus, il y a des échecs de transplantations, de tumeurs initiales comme de tumeurs déjà passées en série : ces échecs, ces "non-prises" ("no-takes") peuvent se produire au cours des trois premiers passages, ils n'ont jamais été observés après, et leur cause reste inconnue (58). On peut aussi assister à des régressions tumorales spontanées (200) :

- soit par Immunité résiduelle suffisante pour entraîner le rejet (105),
- soit par la plus ou moins grande aptitude du greffon à surmonter l'anoxie consécutive à son implantation (105)
- soit par une faible fraction proliférante dans ce greffon ("Growth Fraction") (105)
- soit par l'action de la fonction B, des macrophages, des cellules NK (87)
- soit enfin par une synthèse de "Tumor Angeiogenesis Factor" en quantité ou en qualité isuffisante (87).

Enfin, la pauvreté, voire l'absence de métastases chez la souris Nude hôte de xénogreffes est souvent rappelée : il faut considérer que :

- l'implantation sous-cutanée se prête peu à leur formation (66)

- la croissance rapide des tumeurs entraîne un sacrifice ou une mortalité précoce des animaux, avant que le pouvoir métastasiant éventuel ne se révèle (66)

- l'activité NK est, nous l'avons vu, loin d'être négligeable

- pour trouver des métastases, il faut aussi ... les chercher : une étude (257 b) a montré que, sur 801 souris Nude, dont les organes furent examinés macroscopiquement et microscopiquemer 14 présentaient des métastases et chez 2 animaux seulement, celles-ci étaient macroscopiquement visibles.

Les xénogreffes de carcinomes sembleraient métastasier plus fréquemment que celles de sarcomes (270). On ne note pas de différence d'incidence dans l'apparition des métastases chez la Nude, que le greffon provienne d'une tumeur primitive ou d'une métastase du donneur (257 b). Ceci s'observe bien qu'une greffe de métastase ait plus de probabilité de croissance que celle d'une tumeur primitive (59, 258).

Malgré ces inconvénients de "non-prises", de régressions spontanées, et la pauvreté en métastases, les xénogreffes chez la souris Nude sont à plus d'un titre intéressantes car, comme le notèrent les premiers expérimentateurs, les caractéristiques la tumeur originelle se maintiennent, tels que :

- l'aspect histologique,le mode de croissance (40, 41, 47, 57, 200, 209, 213, 242, 262, 263),

- l'ultrastructure, le caryotype (48, 66, 67 209, 213, 217, 257 a, 268),

- les caractéristiques biochimiques (22, 48, 98, 209, 210, 261, 262, 268),

- la sensibilité à la chimiothérapie (62, 65, 88, 180, 183, 184, 211, 307, 308),

- la sensibilité à l'action d'anticorps monoclonaux (95).

Au cours des premiers passages en série, un index mitotique supérieur (256), un temps de latence plus court (214) et une croissance plus rapide (42, 87) que ceux de la tumeur initiale furent observés, avant de se stabiliser avec les passages suivants (42. 272) : l'intérêt de la souris Nude s'est alors précisé.

Notons qu'outre les tests de chimiothérapie, utilisation la plus fréquente des xénogreffes chez la Nude, des essais de radio-, d'immunothérapie ont été tentés.

La radiothérapie est assez facilement effectuée sur des tumeurs greffées par voie sous-cutanée : elles ont une forme globuleuse nettement délimitée et ne sont en principe pas adhérentes aux plans sous-jacents. Ainsi, après irradiation, la régression du greffon tumoral a-t-elle été corrélée à la même régression clinique chez le donneur (36, 273).

Les essais d'immunothérapie sont moins nombreux, à base de greffe de thymus (251) ou d'injections de BCG (203, 204), et ont des résultats comparables : on assiste à une inhibition de croissance très nette, voire à un rejet.

L'hormonothérapie, quant à elle, n'a pas été mise en oeuvre sur des xénogreffes, à notre connaissance du moins.

b) Carcinogénèse :

Les tumeurs chimio-induites chez les souris nu/nu et chez les +/+ ne présentent pas de différences, tant dans leur incidence que dans leur temps de latence (186, 275).

Les tumeurs viro-induites montrent que les Nude sont par exemple plus sensibles à l'action oncogène du virus de polyome que les souris sauvages (2).

De même, après infection par le virus du Sarcome de Moloney (MSV), elles développent une tumeur avec un temps de latence supérieur et ne présentent pas la régression tumorale observée chez les souris normales (276).

En conclusion, sur un plan pratique, les hétérotransplantations peuvent être réalisées :

- dans des sites immunologiquement protégés (18, 70, 71, 77, 78) chez des animaux normaux,

- chez des animaux immunodéprimés de matière spécifique (thymectomie néo-natale) ou non (irradiation),

- chez des souris Nude.

5°) PATHOLOGIE DE LA SOURIS NUDE

Elle est directement liée à sa dysgénésie thymique, et est principalement infectieuse : outre les tissus et organes normaux ou néoplasiques, de nombreux micro-organismes, allant des virus aux flagellés, sont acceptés par la souris Nude. Ils s'y développent et peuvent alors provoquer des affections mortelles, alors qu'ils ne déterminent que des maladies latentes chez les souris conventionnelles, ou sont éliminés par elles. De plus, la souris Nude a tendance à accumuler les séquelles d'infection, ou à présenter des accumulations d'infections (241).

Ainsi l'espérance de vie et la fertilité de cet animal sont-elles inversement proportionnelles à la somme des stress microbiens subi La durée de vie des souris Nude en conditions non protégées ne dépasse guère 4 à 6 mois (56, 240), 8 à 10 mois en conditions "Specific Pathogen Free", alors qu'en milieu hautement protégé,

"germ free", elle est comparable à celle des souris sauvages, soit 2 ans environ. Les risques majeurs sont (87) : l'infection par le virus de l'hépatite murine, très souvent hébergé par les souris normales d'une façon occulte, les infections gastro-intestinales à protozoaires et bactéries, les infections bactériennes de la glande de Harder et de l'utérus. Des agents commensaux tels Giardia muris (protozoaire du tube digestif) et Staphylococcus albus (glande de Harder) se révèlent ainsi pathogènes chez la souris Nude.

La pathologie tumorale spontanée, bénigne ou maligne, est très rare. Elle est représentée surtout par des tumeurs du système hémolymphopoïétique (259). Cette faible fréquence peut être reliée à la forte activité "NK" de la souris Nude et au jeune âge auquel ces animaux sont sacrifiés (10 à 20 semaines en cas de test de chimiothérapie expérimentale par exemple); en effet, l'âge moyen des animaux lors de l'apparition des tumeurs observées est de 9 mois (259). Notons pour finir que la restauration de la fonction T, par injection de thymocytes congéniques ou syngéniques, ne modifie pas la fréquence tumorale (259).

6°) MAINTENANCE

La pathologie infectieuse sera le facteur limitant de l'utilisation de la souris Nude en raison de l'importante mortalité consécutive à la présence de germes, même banaux, dans son environnement. De plus, des contacts avec des facteurs antigéniques exogènes peuvent stimuler un début de maturation des précurseurs immunologiques, et modifier sensiblement la réponse immunitaire de la souris Nude.

Les conditions de maintenance des souris normales ne sont donc pas adaptées à ces animaux qui, naissant par hystérotomie en milieu stérile (isolateur chirurgical), allaités par des femelles Nude

"germ-free", devront donc rester axéniques ou recevoir une flore contrôlée (Schaedler Flora par exemple) les rendant SPF ("Specific Pathogen Free"). Il existe pour cela différentes possibilités (64, 79) :

- soit en enceinte isolée à plusieurs pièces et à air filtré; suivant le principe de séparation : parties saines - parties souillées, elle peut contenir un grand nombre d'animaux : elle apporte un contrôle total du milieu et de la circulation du personnel et du matériel. Elle nécessite le port de gants, masque, bottes, calot et blouse stériles, après prise d'une douche. Les souris sont dans des cages recouvertes de papier filtre, nourriture et eau sont bien sûr stérilisées (autoclavage, irradiation ...), et des prélèvements réguliers de fécès sont effectués (190).

  Ce système a le défaut d'être onéreux, contraignant et nécessitan un personnel consciencieux et bien entraîné.

- soit par des unités en forme d'étagères desservies par des aérateurs à flux laminaire, intéressantes pour héberger un faible nombre de souris. Là aussi les aliments et la boisson sont stéril sés, de même que les vêtements portés par le personnel (159).

- soit enfin en isolateur (enceinte souple de protection) : il présente l'avantage de pouvoir être mis dans n'importe quelle pièce, à température, hygrométrie et éclairement contrôlés, d'être déplacé, mais est fragile, encombrant et tout aussi contraignant que les enceintes isolées. Tout ce qui rentre dans l'isolateur doit être stérilisé dans un sas et, les animaux ne devant pas être en contact avec l'agent stérilisateur, irritant et toxique (formol ou acide péracétique), le sas doit subir une forte aération avant l'introduction du matériel dans l'isolateur, entraînant parfois une perte de temps. Enfin, les manipulations à l'aide des gants, des manchons, demandent une certaine habitude, du talc et ... un peu de patience.

Ainsi,aucun système n'est idéal, mais tous sont utilisables,dans des conditions de stérilité et de confort variables.

II - LES CANCERS RECTO-COLIQUES HUMAINS

1°) EPIDEMIOLOGIE

a) Fréquence : (1, 3, 5, 11, 13, 25, 29, 50, 90, 205, 223, 260, 265, 282)

120.000 nouveaux cas de cancers apparaissent chaque année en France et déterminent 20 pour cent de la mortalité générale. Parmi eux 50.000 sont des cancers digestifs, dont 25.000 ont une localisation recto-colique. Ces cancers recto-coliques sont pour la fréquence au 2ème rang chez l'homme (après les cancers pulmonaires), au Ier rang chez la femme (avant les cancers du sein et de l'utérus). Pour la mortalité ils arrivent au Ier rang en France avec environ 15.000 décès par an. Leur incidence et la mortalité qu'ils entraînent augmentent régulièrement.

b) Répartition : (1, 32, 60, 80, 181,282)

Ce sont des cancers assez spécifiques du monde occidental. La répartition de la morbidité est calquée sur celle de la mortalité. Elles permettent toutes deux de définir des populations à haut risque (Amérique du Nord, Europe de l'Ouest : 30 cas pour 100.000 habitants) et des populations à faible risque (Afrique, Asie, Amérique du Sud : moins de 5 cas).

Chez ces dernières le rôle des facteurs intrinsèques est prédominant dans la cancérogénèse colique. Ils déterminent des cancers "endémiques" qui frappent des sujets de moins de 55 ans, surtout des femmes, sans localisation anatomique privilégiée.

Chez les populations à haut risque le rôle des facteurs extrinsèques, assimilés à l'environnement (facteur du milieu + choix individuels), est très marqué. Ils entraînent des cancers "épidémiques", chez des gens de plus de 55 ans en moyenne, surtout des hommes, au niveau du colon sigmoïde et du rectum principalement.

Notons qu'il existe des formes familiales de cancers coliques, chez des sujets jeunes, dans le côlon droit surtout, souvent associés à d'autres cancers (sein, endomètre).

c) Localisation anatomique en Occident : (60, 175, 247, 282, 299, 302)

- Caecum : 6 pour cent
- Côlon ascendant : 5 pour cent
- Côlon transverse : 10 pour cent
- Côlon descendant : 5 pour cent
- Côlon sigmoïde : 25 pour cent
- Rectum et canal anal : 49 pour cent (1 à 1,5 pour cent pour le canal anal)

Les cancers sigmoïdiens prédominent chez la femme, ceux du rectum chez l'homme; pour les autres localisations il n'y a pas de différence de répartition liée au sexe.

2°) ETIOLOGIE

a) Rôle de l'environnement : (1, 13, 16, 17, 29, 46, 96, 97, 112, 118 169, 247, 288, 296, 304)

L'environnement serait responsable de 80 pour cent des cancers humains. Deux de ses éléments ont un rôle reconnu dans la cancérogénèse colique : la richesse de notre ration alimentaire en graisses d'origine animale et sa pauvreté en fibres végétales.

L'ingestion importante de graisses animales augmente le taux d'acides biliaires primaires, dérivés du cholestérol. Ils sont dégradés par la flore anaérobie colique en acides biliaires secondaires, qui peuvent être des promoteurs ou même des procancérogènes. On observe ainsi une corrélation positive entre la quantité de graisses animales ingérée et l'incidence des cancers recto-coliques.

La pauvreté en fibres végétales favorise plutôt les cancers rectaux. Elle facilite le développement de la flore anaérobie, diminue la quantité d'excréments, ralentit le transit. Ainsi le temps de contact avec la muqueuse et la concentration fécale des éventuels promoteurs et cancérogènes fécaux sont-ils augmentés. La relation inverse est observée chez les populations où la ration est surtout végétale.

Citons enfin le rôle favorisant de la consommation d'alcool en général et de bière en particulier, de l'avitaminose A asymptomatique, de l'ingestion de procancérogènes (cycasine par exemple, dont les cancérogènes ultimes sont l'azoxyméthane et le méthylazoxyméthanol), de promoteurs ou de cocancérogènes (amiante, fer, nickel, nitrosamines...). L'exposition aux radiations ionisantes a elle aussi un rôle reconnu.

b) Rôle des facteurs lésionnels

La possibilité de cancérisation de novo d'une muqueuse recto-colique saine est tenue pour très improbable : certaines lésions sont considérées comme précancéreuses ("polypes") ou au moins prédisposantes (lésions inflammatoires).

- 1 Les polypes néoplasiques (8, 11, 19, 20, 28, 101, 118, 137, 138, 142, 160, 168, 176, 178, 206, 207, 247, 282, 289, 290)

Ce sont des tumeurs bénignes des épithéliums cylindriques. On distingue les polypes vrais (prolifération de l'épithélium de surface) des polyadénomes (prolifération de l'épithélium de surface et de l'épithélium des glandes qui lui sont annexées) et des adénomes (prolifération glandulaire).

En ce qui concerne le cadre colique et le rectum, la séquence adénome-cancer n'est plus mise en doute. Les adénomes, et eux seuls, sont donc dans ce cas des lésions précancéreuses. Ils représentent plus de 50 pour cent des lésions polypoïdes, rencontrées chez 20 pour cent des gens de plus de 60 ans.

On les classe d'après leur architecture car l'aspect cytologique est le même :

- adénome tubulaire : ("polype adénomateux") : 75 pour cent des cas

- adénome tubulovilleux: ("adénome intermédiaire") : 20 pour cent des cas

- adénome villeux : ("tumeur villeuse") : 5 pour cent des cas

La fréquence de cancérisation de ces adénomes dépend :

- du type histologique :

  . villeux : 41 pour cent abritent un carcinome in situ

  . tubulovilleux : 23 pour cent " "

  . tubulaire : 5 pour cent " "

- de la taille : 50 pour cent de cancérisation à partir de 2 à 5 cm de diamètre

- du nombre : 8 pour cent de cancérisation si 1 adénome
  10 pour cent de cancérisation si 2 "
  17 pour cent de cancérisation si 3 "

- du degré de dysplasie : il correspond au degré d'atypie cellulaire et tissulaire, qui est proportionnel à la prolifération et inversement proportionnel à la différenciation. La fréquence de cancérisation est proportionnelle à ce degré de dysplasie.

- de l'âge du patient : 2 pour cent de cancérisation avant 50 ans, 15 pour cent après 70 ans.

Le foyer de dysplasie est la première étape du processus de cancérisation. Le carcinome in situ lui fait suite, puis le cancer franchit la basale et envahit les différentes tuniques : cette évolution se ferait en 5 à 15 ans.

Les facteurs génétiques interviennent aussi : ils sont responsables par exemple de la polypose recto-colique familiale. Elle détermine, dans le côlon gauche surtout, de très nombreux polypes (plusieurs centaines à plusieurs milliers parfois). Le gène en cause est autosomal dominant, porté par une personne sur 10.000.

L'évolution carcinomateuse de cette polypose est inéluctable et apparaît cliniquement vers 40 ans, soit 20 ans plus tôt qu'en l'absence de polypose.

Ainsi tout adénome est-il considéré comme précancéreux et nécessite une exérèse, endoscopique ou chirurgicale.

- 2 Les lésions inflammatoires : (5, 11, 39, 45, 166, 247, 282)

Certaines sont tenues pour favorisantes, telles l'ulcère colique chronique, la recto-colite hémorragique, la colite granulomateuse (maladie de Crohn), et certaines lésions parasitaires (Schistosomose à S. mansoni).

3°) SYMPTOMATOLOGIE (247, 281)

Elle est, surtout pour le côlon droit, frustre et peu spécifique au début du moins. Un cas sur deux est diagnostiqué, assez tardivement, à l'occasion d'une complication (occlusion aiguë, suppuration périnéoplasique, péritonite, fistule), ce qui assombrit le pronostic.

Elle est représentée par des combinaisons d'obstruction-occlusion, de diarrhée, d'anémie chronique, d'hémorragies digestives, de signes généraux (amaigrissement, fièvre ...). Ces combinaisons varient avec la localisation.

4°) ANATOMIE PATHOLOGIQUE (11, 20, 43, 152, 199, 223, 264, 277, 278, 282, 301)

Les cancers colo-rectaux sont à 95 pour cent des carcinomes. D'après l'aspect macroscopique, on distingue :

. une forme plate - ulcéro-végétante : la plus fréquente, c'est une masse bourgeonnante ronde, saignant facilement, siégeant surtout dans le côlon ascendant, transverse le rectum; L'ulcération est entourée d'un bourrelet dont seule la face interne est cancéreuse, la face externe montrant une muqueuse hyperplasiée et inflammatoire, cause possible d'erreur diagnostique lors d'une biopsie.

ulcéro-infiltrante : c'est un cratère à bords durs, infiltrant une paroi rétrécie et durcie, et pouvant sténoser l'intestin (image de virole)

. une forme protubérante, en grappe

. une forme excavée

L'examen en microscopie photonique montre, par ordre de fréquence décroissant :

- un carcinome invasif : Il est le plus souvent du type "adénocarcinome Lieberkuhnien", moyennement à bien différencié, alors à architecture tubulaire, tubuloalvéolaire, papillaire ou polyadénoïde. Il est constitué de cellules cylindriques, le stroma en est très inflammatoire. Il existe parfois des formes villeuses ou cordonales peu différenciées, ressemblant à un carcinoïde : c'est le carcinome atypique.

- un carcinome colloïde : muqueux, il montre de vastes plages de mucus abritant des massifs glandulaires où sont visibles des travées cellulaires, des cellules en bague à chaton.

- un carcinome intra-épithélial ou carcinome in situ : c'est une tumeur rarement observée, car faisant la transition entre l'évolution cancéreuse d'un polype et l'invasion néoplasique.Représenté par des petits foyers proliférants peu différenciés, il est assez souvent visible dans les tumeurs villeuses du rectum.

- un carcinome mucipare à cellules en bague à chaton ("signet cells") : à la différence du carcinome colloïde, on voit peu de plages de mucus, et les "signet cells" sont isolées; souvent associée à des polypes, c'est une tumeur très rare.

- un carcinome indifférencié : très rare lui aussi

- un carcinome malpighien : exceptionnel, il est souvent associé à un adénocarcinome.

D'autres cancers sont parfois observés,tels des Carcinoïdes, des Leïomyo-sarcomes, des Mélanomes malins, des Lymphosarcomes.

Les lésions associées ne sont pas rares : adénomes, ulcération de la partie amont dilatée, colite, péricolite, perforation diastasique, péritonites, fistules.

Une classification de ces cancers a été effectuée par Dukes en 1932, suivant le degré d'invasion, locale ou générale. La valeur pronostique qu'il a associée à chacun des quatre types reste aujourd'hui fiable :

Type A : 22 pour cent des cas, 60 à 95 pour cent de survie à 5 ans. Il est défini par l'infiltration de la paroi, jusqu'à la sous-muqueuse incluse.

Type B : 32 pour cent des cas, 50 pour cent de survie à 5 ans
- B_1 : musculeuse envahie non traversée
- B_2 : musculeuse traversée

Type C : 16 pour cent des cas, 31 pour cent de survie à 5 ans
Il est défini par le degré d'atteinte des ganglions régionaux, quel que soit le degré d'invasion locale
- C_1 : moins de 4 ganglions atteints
- C_2 : 4 ganglions ou plus

Type D : 30 pour cent des cas, 0 à 2 pour cent de survie à 5 ans. Il est défini par l'existence de métastases.

5°) CINETIQUE (20, 21, 139, 140, 278, 280, 291, 295, 297)

La croissance des cancers recto-coliques est relativement lente, en raison d'une faible prolifération liée à un taux assez restreint de cellules proliférantes ("Growth Fraction"). Ceux se développant sur une recto-colite hémorragique ou une polypose recto-colique familiale ont une croissance plus rapide. Cette croissance tumorale peut s'apprécier par l'étude de l'activité enzymatique des cellules cancéreuses. Pour les cellules en prolifération, la durée du cycle cellulaire est assez proche (22 à 155 heures) de celle de la muqueuse normale. L'invasion néoplasique se fait lentement à travers les tuniques, d'une manière grossièrement perpendiculaire à la surface, et non latéralement sous une muqueuse saine comme le font les carcinomes gastriques : une bonne indication de taille est alors donnée par la mesure de la lésion superficielle.

6°) CARACTERISTIQUES CELLULAIRES - HETEROGENEITE : (14, 21, 34, 37, 53, 54, 89, 91, 113, 135, 139, 198, 218, 232)

Une importante hétérogénéité existe fréquemment au sein d'un cancer recto-colique. Elle peut concerner :

- l'aspect morphologique
- le pouvoir métastasiant
- la capacité de prolifération
- les propriétés immunologiques
- les caractéristiques chromosomiques
- la sensibilité à la chimiothérapie

Cette hétérogénéité, maintes fois constatée, pourrait évoquer une origine polyclonale.

7°) DIAGNOSTIC : (4, 11, 51, 152, 207, 229, 300)

Les moyens principaux en sont, outre le toucher rectal, le rectoscope et le proctoscope rigides, le rectosigmoïdoscope et le colonoscope flexibles à fibres optiques. Les moyens complémentaires sont par exemple le lavage et la cytologie colique, les radiographies , sans préparation ou en double contraste, le radiodiagnostic de sang fécal ou son diagnostic par recherche de l'activité péroxydasique de l'hémoglobine (test Hemoccult); l'artériographie et la scintigraphie hépatiques (recherche des métastases non palpables), enfin la possible recherche (125) in vitro de transformation et de multiplication des fibroblastes dermiques sous l'action de promoteurs.

8°) EVOLUTION - PRONOSTIC : (3, 11, 20, 11, 120, 132, 136, 143, 151, 158, 205, 219, 222, 223, 247, 250, 254, 266, 267, 278, 281, 282, 299,301,30

Les cancers recto-coliques métastasient, chez 50 pour cent des patients à cancer avancé, d'une manière assez précoce, vers le foie, les poumons la moelle osseuse principalement, par voie lymphatique ou sanguine.

Tous cas confondus, le taux de survie à 5 ans est de 5 pour cent, et de 35 à 40 pour cent pour les cas traités.

Le pronostic peut être fonction de différents paramètres :

- date du diagnostic
- localisation
- anatomie pathologique
  . nature des lésions antérieures
  . taille du cancer
  . type macroscopique
  . stade de la classification de Dukes
  . invasion veineuse, pour les cancers rectaux
  . invasion locale
  . présence ou non de métastases
  . infiltration éosinophilique
- cinétique des marqueurs biologiques (antigène carcino-embryonnaire, ADN circulant, α foetoprotéine, anticorps antilactosylsphingosine).

Tous ces critères de pronostic se combinent au sein d'un même organisme dont l'état général (allant parfois de la dénutrition à la cachexie), l'âge et les capacités de résistance, sont des facteurs d'importance no négligeable.

9°) TRAITEMENT : (11, 15, 23, 24, 44, 69, 170, 171, 172, 173, 174, 179, 182, 207, 223, 267, 299, 305, 306, 309).

Il est essentiellement chirurgical, quand le patient est opérable. Quelle que soit la localisation et le type d'intervention, celle-ci doit assurer :

- soit l'exérèse en bloc de la tumeur et de son drainage lymphatique, en prenant les habituelles précautions contre l'essaimage tumoral : c'est l'intervention curative

- soit, en cas de tumeur inextirpable ou de carcinose péritonéale par exemple, le shunt du territoire cancéreux. Il s'agit alors d'une dérivation interne permettant le transit. C'est l'intervention palliative, suivie d'un traitement non chirurgical de la tumeur, et d'une éventuelle ré-intervention par la suite.

La chirurgie des cancers recto-coliques non compliqués, seule envisagée ici, fait appel à un nombre restreint de techniques variant avec la localisation :

- Côlon droit :

  . Hémicolectomie droite curative, avec anastomose transverse termino-terminale ou termino-latérale

  . Anastomose iléo-transverse latéro-latérale palliative

- Côlon gauche :

  . Hémicolectomie gauche curative avec anastomose transverso-rectale termino-terminale.

. colectomies segmentaires curatives

. anastomose transverso-rectale
latéro-latérale, ou colostomie : interventions palliatives

- Rectum :

. cancers proximaux : si possible résection antérieure
avec anastomose colo-rectale termino-terminale basse ;

. cancers distaux : amputation abdomino-périnéale et colostomie.

Les résultats sont de l'ordre de 40 à 50 pour cent de survie à 5 ans, et n'ont pas évolué significativement depuis 30 ans. On observe de 0,5 à 10 pour cent de mortalité per et post-opératoire immédiate, liée à des facteurs généraux surtout.

Les formes inopérables ou disséminées au moment du diagnostic (type D de Dukes), associées à un état général précaire, empêchent souvent toute intervention chirurgicale. Les thérapies adjuvantes de la chirurgie trouvent là leur place, comme dans le traitement de la maladie cancéreuse post-opératoire des types C et D. Le but alors poursuivi est de diminuer le volume tumoral pour en permettre l'exérèse ultérieure.

La chimiothérapie permet chez 15 à 40 pour cent des patients une rémission du cancer recto-colique, c'est à dire une diminution d'au moins la moitié du volume tumoral. Elle n'augmente pas significativement la survie à terme. Les agents les plus utilisés sont le 5-Fluorouracile, les Nitrosourées, le Cyclophosphamide, la Vincristine.

Ainsi le 5-Fluorouracile, le plus utilisé en monochimiothérapie, apporte une rémission dans 15 à 20 pour cent des cas. Les associations de 5-Fluorouracile et d'autres agents ont souvent une toxicité supérieure à leurs toxicités respectives, et une activité globale comparable à celle du 5-Fluorouracile seul.

La radiothérapie s'utilise surtout en cas de cancer rectal bas situé, de tumeur inextirpable, d'une manière pré-opératoire.

L'immunothérapie se pratique de façon active et non spécifique. Elle est à base de BCG par exemple, utilisée seule ou combinée à une chimiothérapie, simultanément ou alternativement.

III - MATERIEL

1°) ANIMAUX

Nous avons utilisé des souris Swiss nu/nu femelles, âgées de 3 à 5 semaines à la réception, provenant de la Société IFFA-CREDO, portant la dénomination SSCUP (pour "statut sanitaire contrôlé usage particulier"). Le transport est effectué par la route ou le rail, en containers métalliques prévus pour être adaptés aux isolateurs et assurant la stérilité du contenu.

Les animaux sont maintenus en isolateurs stériles durant toute la durée de l'expérimentation. Ces isolateurs, fabriqués par la Société "La Calhène" (95870 BEZONS) sont composés d'un film transparent en PVC. Chaque isolateur est monté sur un plateau et soutenu par un cadre métallique externe; il est pourvu de 3 manchons en néoprène, amovibles en cas de déchirure. Enfin un ventilateur permet le renouvellement de l'air, qui passe à travers un filtre absolu, en amont comme en aval. Par l'intermédiaire de la double porte rapide on peut raccorder un sas ou une tente chirurgicale, de même conception; ces isolateurs peuvent contenir 15 à 20 cages de 30 x 18 x 13 cm chacun, sur 3 niveaux (étagère inox).

La stérilisation de ces enceintes et du matériel inerte contenu se fait en y raccordant, au niveau du filtre amont, un appareil automatique ("Stéricelster") qui vaporise et pulse de l'acide péracétique à 3,5 %; un tuyau d'évacuation est branché sur le filtre aval, évitant la diffusion dans le local des vapeurs d'acide irritantes.

Ce local est une animalerie conventionnelle, à température hygrométrie et éclairement (12h-12h) contrôlés; sa seule caractéristique est de posséder une arrivée d'air comprimé nécessaire à la stérilisation.

Après introduction dans l'isolateur les souris sont réparties, à raison de 5 à 6 par cage, dans les 10 à 20 cages plastiques utilisées en moyenne.

La nourriture (aliment R 03, composition : cf tableau) et la litière proviennent de la Société U.A.R. (Epinay sur Orge) : conditionnées sous vide sous double enveloppe plastique, elles sont stérilisées par irradiation (4 MRad) par l'Institut National des Radioéléments (Belgique). Les biberons (250 ml d'eau ordinaire) sont autoclavés sous poche imperméable, et une réserve de nourriture est laissée en permanence dans chaque isolateur (Distribution ad libitum)

Le changement de litière et de biberons est effectué 2 fois par semaine, celui des cages et des grilles I fois.

Le contrôle de la stérilité de l'isolateur, avant introduction des animaux, se fait par mise en place de boîtes de Petri (1 au bouillon Trypticase - soja, 1 à milieu de Sabouraud, laissées ouvertes 24 heures dans l'isolateur, puis sorties et mises à l'étuve à 37°C pendant respectivement 2 et 7 jours.

Aliment composé complet R03

1) Composants : 1 - maïs, blé, orge, matières grasses
2 - remoulage
3 - tourteaux de soja, farine de poisson, poudre de sérum, levure, caséine
4 - composé minéral vitaminé UAR

2) Garanties :

- au maximum : humidité 13 pour cent
matières cellulosiques 4,5 pour cent
matières minérales 6 pour cent

- au minimum : protéines brutes 22 pour cent
  matières grasses 4 pour cent

- vitamines : A : 7.000 UI/kg (conservation de ces vitamines
  D_3 : 3.500 UI/kg garantie 6 mois)

2°) DROGUES ANTITUMORALES (5-FLUOROURACILE ET CYCLOHEXYL-CHLOROETHYL-NITROSOUREE)

Mode d'action et toxicité chez la souris Nude

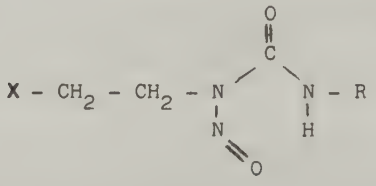
On distingue parmi les drogues utilisables les agents alkylants, les antimétabolites, les antimitotiques, les antibiotiques, les enzymes, et certaines ne rentrant pas dans cette classification, comme l'hydroxyurée, le cis-platine (11).

Le 5-Fluorouracile (5-FU), (NSC 19893), est un antimétabolite, le Cyclohexyl-Chloroéthyl-Nitrosourée (CCNU), (NSC 79.037) voit sa famille rattachée aux agents alkylants.

Le 5-FU agit par compétition : analogue des bases pyrimidiques, il empêche la formation de thymine à partir de l'acide thymidilique, par son affinité pour la thymidilate-synthétase. Il n'est pas incorporé à l'ADN et inhibe ainsi sa synthèse : il est donc cycle - et phase - dépendant, atteignant les cellules synthétisant leur ADN, soit celles en phase S du cycle cellulaire. Catabolisé par réduction il est éliminé avec le CO_2 respiratoire (70 %) et l'urine (30 %) (25a). Le traitement des cancers recto-coliques chez l'homme est une de ses indications majeures.

Il a été très souvent testé sur des xénogreffes chez la souris Nude, de carcinomes recto-coliques (52, 68, 106, 180,235, 236, 252) ou d'autres cancers humains (62, 65, 103, 157, 187, 188, 189, 208). Il donne des résultats le plaçant,comme chez l'homme, parmi les agents les plus actifs sur les cancers recto-coliques, ce qui en fait une drogue de référence en quelque sorte.

Les nitrosourées, de formule développée générale



sont des agents alkylants : leur activité anticancéreuse repose sur leur décomposition spontanée, d'une part en carbo-cation électrophile $X - CH_2 - CH_2 \overset{\oplus}{}$ (groupement alkyle $- CH_2 - CH_2 -$: éthyle), d'autre part en isocyanate $R - N = C = O$ (123).

La fixation par mécanisme de substitution nucléophile du carbocation (alkylation) se fait sur des sites nucléophiles de l'ADN, dits sites d'alkylation; cette réaction classe à priori les nitrosourées dans les agents monoalkylants, non antitumoraux (133). En effet, l'alkylation des phosphates ou des bases entraîne des cassures monocaténaires assez facilement réparées (292) par diverses enzymes (exonucléase qui effectue l'amputation de la partie lésée, polymérase qui insère de nouveaux nucléotides, ligase qui rétablit la continuité du brin d'ADN (192). Cependant des pontages interbrins (crosslinks) de l'ADN sont possibles, postérieurement à la monoalkylation, par l'établissement progressif de liaisons covalentes $- CH_2 - CH_2 -$ reliant un deuxième site nucléophile, dans la mesure où il est situé en regard du premier, sur l'autre brin de l'ADN (122, 123).

Ces pontages intercanétaires, lésions létales à terme pour les cellules atteintes, seraient rendus possibles par la déficience des cellules tumorales à réparer les lésions par monoalkylation,

normalement réparées par les cellules non cancéreuses (123) : cette déficience serait en partie due à la carbamylation des groupements Amine ou Sulfhydrile des protéines par la portion isocyanate des nitrosourées : cette réaction inhiberait ainsi certaines des enzymes de réparation de l'ADN (25b, 123, 298).

Les nitrosourées, agents "mono" alkylants et carbamylants, pourraient ainsi inhiber la réparation des lésions de l'ADN qu'elles induisent, interdisant par là sa synthèse et sa réplication normales.

Le CCNU, comme les autres Nitrosourées, est de fait non spécifique de phase. Il est entièrement métabolisé chez l'homme ; 50 pour cent de la dose administrée sont excrétés dans l'urine sous forme catabolisée pendant les 12 premières heures (25 b). Le traitement des cancers du tube digestif est une de ses indications majeures (25 b), mais il est moins utilisé que le 5-FU sur les carcinomes colorectaux. De même, il a été, à notre connaissance, relativement peu testé sur ces tumeurs, transplantées chez la souris Nude (212 par exemple).

La toxicité des drogues antitumorales chez la souris nu/nu est assez souvent, mais pas obligatoirement, inférieure à celle observée chez les animaux +/+ de même souche (102, 106, 157). Ces écarts viendraient des différences de métabolisme (102), reposant sur une activité microsomale, hépatique et rénale, supérieure chez la Nude (61) :

	5-FU IP 3 injections à 4 jours d'intervalle (102)	5-FU IP 1 injection	CCNU IP (208) 1 injection
DL_{50} (Souris +/+	52 mg/kg	190 mg/kg (157)	
DL_{50} (Souris nu/nu	80 mg/kg		62 mg/kg
DL_5 Souris nu/nu (106)		200 mg/kg	

Nous avons choisi des doses thérapeutiques élevées, proches des doses toxiques :

- 5-FU : 45 et 90 mg/kg
- CCNU : 30 et 50 mg/kg (*)

(*) Initialement et par analogie à la seule référence bibliographique dont nous disposions (212) concernant le CCNU, nous avions choisi d'administrer 15 et 25 mg/kg.

Une erreur de calcul nous a amenés à administrer 30 et 50 mg/kg. Nous nous en sommes rendu compte au cours de l'expérimentation. Nous n'avons pas modifié le protocole pour que les résultats restent comparables entre eux. De plus, les animaux avaient bien supporté les deux injections, bien qu'elles approchent la DL-50 (cf tableau ci-dessus).

3°) CANCERS RECTO-COLIQUES

Ils nous ont été aimablement fournis, ainsi que leur anamnèse, par Monsieur le Professeur FOURTANIER* (C. H. U. RANGUEIL-TOULOUSE). Ils proviennent de patients opérés par ses soins, n'ayant reçu aucun traitement préalable.

Cancer C3 :

Chez une femme de 83 ans, une douleur de la fosse illiaque droite fut le point de départ des examens diagnostiques. La tumeur siégeait dans le côlon ascendant, à 7 cm de la valvule iléo-caecale, et donna lieu à une hémicolectomie droite le 18 mars 1983.
Le carcinome, ulcéré et nécrotique, se présentait comme une virole haute de 7 cm intéressant toute l'épaisseur de la paroi, et sténosant le côlon.
L'examen microscopique montre un adénocarcinome assez bien différencié englobant toutes les tuniques. Il est de type Lieberkühnien, de forme trabéculaire ; les cellules sont grandes, à haut rapport nucléo-cytoplasmique (RNC). Leur noyau est grand, ovoïde, clair, nucléolé, à chromatine marginée. L'anisocytose est assez marquée, et peu de mitoses sont visibles. La stroma-réaction est modérée, limitée à une infiltration lymphocytaire diffuse. Enfin la contiguïté à la muqueuse normale est nette.
Ce cancer fut classé dans le stade C de la classification de DUKES, par le service d'Anatomie Pathologique du C. H. U. RANGUEIL, ceci signifiant donc la présence de métastases ganglionnaires.

---

* Service de Chirurgie Digestive, Bloc H2
C. H. U. RANGUEIL - 31054 TOULOUSE CEDEX

Cancer R4 :

Il provient d'un homme de 72 ans, chez qui la découverte de métastases pulmonaires avait entraîné, en février 1983, une lobectomie inférieure gauche. A la suite d'une consultation pour rectorragies, la tumeur primitive, un cancer rectal, fut localisée et donna lieu à une résection recto-sigmoïdienne le 22 avril 1983. Ce cancer se présentait sous la forme d'un ulcère végétant triangulaire non circonférenciel, situé à 8 cm de la marge anale. La hauteur de ce triangle, parallèle au grand axe du rectum, mesurait 5,5 cm. Cette tumeur était accompagnée de petits polypes sessiles. L'examen microscopique montre un adénocarcinome bien différencié envahissant la musculeuse sans la traverser (stade B1 de DUKES). Il est de type Lieberkühnien, de forme tubulaire nette. Les tubes sont bien définis mais présentent un aspect pluristratifié. Les cellules, à haut RNC, sont hautes, palissadiques, ont un grand noyau dense, ovoïde à rectangulaire, à chromatine floconneuse. Les noyaux ont leur grands axes parallèles entre eux et au grand axe des cellules, et montrent peu d'images de mitoses. La stroma-réaction est nette, congestivo-hémorragique surtout, accompagnée d'une faible infiltration lymphocytaire diffuse. Enfin, la contiguïté à la muqueuse normale est bien visible.

Cancer S6 :

Il provient d'une femme de 73 ans. Il siégeaitdans le côlon sigmoïde dont l'exérèse eut lieu le 8 juin 1983 par colectomie segmentaire. Cette tumeur, non circonférencielle, était située du côté meso du segment intestinal ; la forme était ovalaire (8 x 6 cm) et l'aspect rappelait celui d'une grappe de raisin : un centre ulcéro-nécrotique de faible diamètre et une périphérie congestivo-hémorragique très bourgeonnante. Ce cancer semblait macroscopiquement intéresser toute la paroi.
L'examen microscopique montre un adénocarcinome bien différencié, de type Lieberkühnien et de forme tubulaire. Il envahit la musculeuse sans la traverser, ce qui en fait un stade B1 de DUKES. Les tubes

sont bien délimités, à grandes cellules, hautes et à RNC élevé. Les noyaux sont ronds ou ovalaires, clairs, nucléolés, à chromatine poussiéreuse, et grossièrement parallèles entre eux. Il y a peu d'anisocytose. La stroma-réaction est importante, surtout congestivo-hémorragique avec une infiltration lymphocytaire assez marquée. La contiguïté à la muqueuse normale est visible.

Cancer R10 :

Il provient d'un homme de 67 ans. Il siégeait dans le rectum dont l'exérèse eut lieu le 4 octobre 1983 par amputation abdomino-périnéale. Situé à une dizaine de cm de la marge anale, c'était un ulcère de 10 cm de diamètre, circonférenciel, sténosant, nécrotico-hémorragique bourgeonnant sans bourrelet. Macroscopiquement il semblait intéresser toute la paroi. L'examen microscopique montre un adénocarcinome assez bien différencié, Lieberkühnien tubulaire, infiltrant la sous-muqueuse seule (stade A de DUKES). Les tubes sont assez bien définis. Les cellules sont palissadiques, à RNC élevé ; les noyaux sont gros, rectangulaires à ovoïdes, très basophiles, nucléolés, à chromatine poussiéreuse. Ils sont disposés à peu près tous à la même hauteur, en position basale, et montrent peu de mitoses. Le cytoplasme de ces cellules est clair, vacuolisé en portion apicale. Il y a peu d'anisocytose. La stroma-réaction est importante, congestivo-hémorragique et lymphocytaire très dense.

Cancer CA 10 :

Il provient d'une femme de 62 ans. Il siégeait dans le côlon ascendant ; l'exérèse eut lieu par hémicolectomie droite le 7 octobre 1983. Situé à une quinzaine de cm de la valvule iléo-caecale, il se présentait sous la forme d'un ulcère végétant d'environ 8 cm de diamètre, circonférenciel, peu sténosant et peu bourgeonnant. Il semblait infiltrer une bonne partie de la paroi.
Microscopiquement c'est un adénocarcinome bien différencié, Lieberkühnien tubulaire, infiltrant la sous muqueuse seule (stade A de DUKES). Les tubes sont bien définis, à grandes cellules basophiles

palissadiques et à RNC élevé. L'anisocaryose est assez marquée : on observe à la fois des petits noyaux ronds, clairs nucléolés, à chromatine marginée, et des gros noyaux ovoïdes denses nucléolés à chromatine poussiéreuse. La densité cellulaire est élevée.
La stroma-réaction est très importante, congestivo-hémorragique et lymphocytaire.

Cancer R12 :

Il provient d'une femme de 50 ans. Il siégeait dans le rectum, dont l'exérèse eut lieu le 13 décembre 1983 par amputation abdomino-périnéale. Situé à une dizaine de cm de la marge anale, il se présentait sous la forme d'un ulcère végétant circonférenciel de 3 à 4 cm de diamètre, sténosant, nécroticohémorragique à bourrelet. Macroscopiquement il semblait infiltrer une majeure partie de la paroi.
Microscopiquement, c'est un adénocarcinome bien différencié, Lieberkühnien tubulaire, infiltrant la musculeuse sans la traverser, sur nos prélèvements du moins (stade B1). Les tubes sont bien définis, mais à la lumière irrégulière et rarement circulaire, contenant des cellules desquamées et des granulocytes. Les cellules sont grandes, basophiles, à haut RNC, en arrangement palissadique. Leurs noyaux sont gros, ovoïdes à chromatine poussiéreuse, avec 1 ou 2 gros nucléoles ; leur grand axe est parallèle à celui des cellules. La densité cellulaire est forte et l'anysocytose assez marquée. La stroma réaction est fibreuse au centre dè l'ulcère, où l'on ne voit que quelques tubes isolés, et congestive à la périphérie, avec infiltration lymphocytaire nette. Ici aussi la contiguité à la muqueuse normale est bien visible.

N. B. : Dans les chapitres suivants, ces cancers seront désignés par leur code, suivi éventuellement d'un tiret et d'un chiffre indiquant le rang de passage (ex : CA10-2 : cancer CA10, à son 2ème passage).

IV - METHODES

1°) PRELEVEMENT

Le prélèvement est constitué de plusieurs fragments pris en différents territoires de la tumeur; il est effectué dans les minutes qui suivent l'exérèse du segment intestinal par Mr le Professeur FOURTANIER et son équipe, puis placé dans un ou plusieurs flacons de 100 ml de milieu de Base de Eagle (MBE - 211 - Eurobio - Paris), contenant 100 UI de pénicilline et 50 µg de Streptomycine par ml (Pénicilline - Streptomycine, de Bio-Mérieux - France); ces flacons sont maintenus à une température comprise entre + 3 et + 6°C. Ces opérations ont lieu dans l'enceinte du bloc opératoire du CHU - Rangueil (Toulouse).

L'addition au milieu de Eagle d'antibiotiques est rendue nécessaire par l'abondante flore du gros intestin, et permet d'assurer une relative asepsie de l'inoculum (180) : cette méthode, peut-être plus théoriquement satisfaisante que véritablement efficace, nous a cependant paru préférable à l'administration de ces mêmes antibiotiques aux souris (per os dans l'eau de boisson par exemple) pendant les jours qui précèdent la greffe (66).

Dès l'arrivée au Service de Pharmacologie, le prélèvement est mis dans des boîtes de Petri stériles, à moitié remplies de milieu de Eagle neuf, toujours additionné d'antibiotiques aux mêmes concentrations. Cette manipulation, comme les suivantes, se fait sous hotte à flux laminaire, avec du matériel et des gants stériles.

Après parage et élimination éventuelle des parties nécrosées, plusieurs fragments sont prélevés :

- un pour examen bactériologique,
- un, ou plusieurs si possible, pour examen histologique
- un pour établissement du caryotype
- plusieurs petits fragments enfin, conservés dans l'azote liquide, constituent une réserve de matériel tumoral.

Enfin l'inoculum est préparé sous forme de "bouillie" par fin découpage au bistouri du reste du prélèvement dans une boîte de Petri (celle-ci contenant toujours du milieu de Eagle additionné d'antibiotiques). Cette bouillie est ensuite répartie dans des seringues de 2 ml, portant des trocarts de 2,5 mm de diamètre. Cette méthode a été préférée à l'inoculum de fragments ou d'homogénats car elle permet une bonne homogénéisation des différents composants tissulaires constituant le prélèvement : tissu tumoral (vivant ou nécrosé, bénin ou malin), tissu non tumoral (sain ou réactionnel inflammatoire). Cette homogénéisation ne serait pas assurée par l'injection de fragments pris au hasard. De plus, on obtient un taux de cellules vivantes meilleur qu'avec l'homogénat préparé au mortier.

Le taux de prise de la greffe tumorale étant proportionnel au volume tumoral injecté (55, 233), la plus grande partie du prélèvement initial est utilisée dans la préparation de l'inoculum.

2°) GREFFE

Les seringues contenant la bouillie sont placées dans une boîte à instruments stérile, introduite ensuite dans l'isolateur après vaporisation d'acide peracétique.

La greffe est effectuée par voie sous-cutanée, en arrière de l'épaule droite des animaux; un essai de standardisation de ce geste est nécessaire car le taux de prise et la croissance tumorale peuvent varier avec le site d'implantation (38, 87, 130, 233).

C'est en effet un des paramètres affectant le succès d'une transplantation, comme le temps écoulé depuis l'exérèse, le mode de manipulation et de préparation de l'inoculum, l'état de santé des animaux etc ... (233).

Les doses injectées varient avec la quantité de milieu de Eagle utilisée, et la taille du prélèvement initial. Celle-ci dépend elle-même de la taille de la tumeur d'origine (pour le premier passage), ou de la taille des tumeurs "contrôles", non traitées, en cas de deuxième (ou plus) passage en série à effectuer.

3°) CHIMIOTHERAPIE

Nous avons commencé les traitements quand la "prise" de la greffe tumorale est devenue appréciable : apparition d'un nodule au point d'inoculation, ferme, bien délimité, mobile sous la peau, d'un volume variant de 0,1 à 1 cm3. Le nombre de jours écoulés depuis la greffe définit alors le temps de latence, qui correspondra à la partie non exponentielle de la courbe de croissance tumorale (non représentée sur les graphiques)

Les animaux sont répartis en lots de manière à ce que les différents volumes de tumeurs apparues soient également distribués; le volume tumoral moyen est ainsi voisin dans les différents lots. 5 lots de 5 (ou 6) animaux sont constitués :

- Lot N° 1 : 5-FU à 45 mg/kg

- Lot N° 2 : 5-FU à 90 mg/kg

Chaque dose est dissoute dans une quantité d'eau distillée stérile telle que chaque animal reçoit 0,1 ml de solution pour 10 g de poids vif (soit respectivement 9 mg et 18 mg dissous dans 2 ml).

- Lot N° 3 : CCNU à 30 mg/kg

- Lot N° 4 : CCNU à 50 mg/kg

Chaque dose est dissoute dans une quantité d'eau distillée stérile, contenant 0,5 pour cent de carboxyméthyl cellulose et 0,4 pour cent de Tween, telle que chaque animal reçoit 0,2 ml de solution pour 10 g de poids vif (soit respectivement 6 et 10 mg dissous dans 4 ml)

- Lot N° 5 ou "C" : "Contrôles" (=témoins, sans traitement).

Ces animaux n'ont pas reçu d'administration de solvant, ce qui est pourtant habituel, car le 5-FU et le CCNU ont des solvants différents. Il nous aurait fallu pour cela 2 lots "Contrôles", chacun recevant un des 2 solvants : le nombre d'animaux nécessaire aurait été trop important.

Les solutions sont préparées stérilement sous hotte à flux laminair et U. V.. Elles sont injectées par voie intrapéritonéale 2 fois à 8 jours d'intervalle, soit à J_1 et J_9, sensiblement à la même heure, entre 10 et 11 heures.

4°) PASSAGE EN SERIE

Les greffons sont préparés à partir de prélèvements des tumeurs "contrôles", non traitées. Il est réalisé le jour de l'évaluation finale de l'expérimentation considérée. Le nombre d'animaux utilisé est sensiblement le même que pour les tumeurs initiales (environ 40). Le protocole de préparation de l'inoculum, de l'inoculation et de la chimiothérapie est rigoureusement identique.

5°) TECHNIQUES HISTOLOGIQUES

Elles ont été mises en oeuvre, à partir des prélèvements effectués dans ce but, à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, dans le Laboratoire du Service d'Histologie, Embryologie et Anatomie

Pathologique (Professeur G. VAN HAVERBEKE (*). Deux colorations courantes ont été utilisées : coloration à l'Hémalun-Eosine, et Trichrome de Masson. C'est à partir de ces préparations histologiques qu'ont été effectuées les photographies présentées dans la partie "Résultats".

6°) CARYOTYPE

En vue d'établir le caryotype, nous avons essayé de cultiver in vitro les tumeurs utilisées, en nous inspirant de divers protocoles (22, 255). Les techniques, le matériel utilisé et les résultats sont résumés dans les tableaux suivants :

Références du matériel :

- AB = Antibiotiques :
  - . Pénicilline - Streptomycine, Bio-Mérieux (France)
  - . Gentamycine (
    . Fungizone (Flow Laboratories (U.K.)
  - par ml : AB_1 = Pénicilline 200 UI, Streptomycine 50 µg
    AB_2 = Gentamycine 125 µg, Fungizone 25 µg
    AB_3 = Pénicilline 500 UI, Streptomycine 125 µg
    AB_4 = AB_3 + 25 ug Fungizone
    AB_5 = Gentamycine 250 µg, Fungizone 50 µg
    AB_6 = Gentamycine 100 µg, Fungizone 50 µg
    AB_7 = Gentamycine 300 µg, Fungizone 50 µg
- Trypsine à 2,5 p cent (
- Mac Coy (
- RPMI 1640 (Flow Laboratories (U.K.)
- PBS (Phosphate Buffered Saline) (
- DM SO (Diméthylsulfoxyde) - American type Culture Collection Rockville, Maryland (U.S.A.)
- FCS (Fetal Calf Serum) : K. Biological, Inc, Lenexa, Texas (U.S.A.)
- Eagle : MBE 211, Eurobio-Paris (France)

(*) Service d'Histologie, Embryologie et Anatomie Pathologique, Ecole Nationale Vétérinaire, 23 Chemin des Capelles - 31076 TOULOUSE Cx

Tumeurs / Protocole	C 3	C 3	C 3-1	S 6
Caractéristiques du prélèvement - Origine	Tumeur surgelée dans Azote liquide, dans Eagle à 10% DMSO +AB1	idem	Tumeur fraîche, dans Eagle +AB1	Tumeur congelée dans congélateur ménager, dans Eagle à 20%DMSO +AB1
Décongélation	+4°C x 24h	+38°C x 1mn	0	+38°C x 1mn
Préparation	Hachage fin	idem	idem	idem
Trypsination	0,25% x 15mn à température ambiante	idem (0,25% x 12h à +4°C)	idem	0
Centrifugation	800 t/mn x 5mn	idem (culot + fragments)	idem	0
Milieu de Culture	Eagle + AB1 + 20% FCS	idem	idem	idem
Conditions de Culture	Dans flasques "Falcon" 3013F, à +37°C, sous atmosphère à $\%CO_2$			
Résultats	NEGATIF (souillée)	NEGATIFS	NEGATIF (très importantes contaminations microbiennes)	NEGATIF

Tumeurs / Protocole	R 4	C 3-2	C 3-2'	C 3-2
Caractéristiques du prélèvement - Origine	Tumeur surgelée dans Azote liquide, dans Eagle à 10% DMSO +AB1	Tumeur fraîche, dans Eagle +AB1	Culture initiale	Tumeur surgelée dans Azote liquide, dans Eagle à 10% DMSO +AB1
Décongélation	+38°C x 1mn	0	0	+38°C x 1mn
Préparation	Hachage fin.	idem	rincages au PBS	Hachage fin
Trypsination	0	0	0,25% x 15mn à température ambiante	0
Centrifugation	0	0	800 t/mn x 5mn	0
Milieu de Culture	Eagle + AB1 + 20% FCS	idem	Mac Coy +AB1 +10% FCS	Mac Coy + AB2 +20% FCS
Conditions de Culture	Dans flasque "Falcon" 3013F, à +37°C, sous atmosphère à 5% CO_2			
Résultats	NEGATIF (contaminations microbiennes)	"POSITIF" (importantes contaminations)	NEGATIF	NEGATIF

Tumeurs / Protocole	C 3-2	C 3-2	C 3-2	C 3-3	
Caractéristiques du prélèvement - Origine	Tumeur congelée dans congélateur ménager, dans Eagle + AB_1	idem	idem	Tumeur fraiche, dans Eagle + AB_1	
Décongélation	+38° C × 1 mn	idem	idem	0	
Préparation	Hachage fin	idem	idem	idem	
Trypsination	0	0	0	0	
Centrifugation	0	0	0	0	
Milieu de Culture	Mac Coy + AB_3 +20% FCS	Mac Coy + AB_4 +20% FCS	Mac Coy + AB_5 +20% FCS	Mac Coy + AB_6 +20% FCS	Mac Coy + AB_7 +20% FCS
Conditions de Culture	Dans flasque "Falcon" 3013F, à +37°C, sous atmosphère à 5% CO_2				
Résultats	NEGATIF	NEGATIF	NEGATIFS	NEGATIFS	

7°) PARAMETRES, MESURES ET OBSERVATIONS

a) Prise tumorale :

Après plusieurs passages en série, quand une tumeur aura un temps de latence stabilisé, nous considèrerons comme négatifs les animaux ne présentant pas de nodule tumoral à la fin de ce temps de latence.
Avant cette stabilisation, quand un nombre suffisant de nodules tumoraux sont apparus ($\geq$ 25/41) nous nous bornons à séparer les animaux en 2 groupes : un groupe d'animaux positifs, à partir duquel les 4 lots traités et le lot contrôle précédemment décrits sont constitués, et un groupe d'animaux "négatifs".
Ce second groupe est conservé quelques semaines. Si des nodules tumoraux apparaissent, ils constitueront plus tard du matériel, à des fins d'examen histologique, d'essais de conservation par exemple. Si ces animaux restent négatifs, ils sont sacrifiés.

b) Seuil de toxicité des drogues :

Par référence au programme de screening du National Cancer Institute (N. C. I.), nous considèrerons comme toxique une dose qui provoque 34 % de mortalité entre son administration et le jour final d'évaluation.

c) Mesures :

Nous mesurons les tumeurs 3 fois par semaine à l'aide d'un pied à coulisse : pour chaque tumeur le volume est apprécié par le produit de ses 3 dimensions : le volume tumoral moyen (VTM) est alors établi pour chaque lot.

Cette méthode d'approximation du volume (127) n'est pas la seule : on aurait pu aussi utiliser :

- $(\text{diamètre moyen})^3 \frac{\Pi}{6}$ (180)

- $(\text{diamètre médian})^3 \frac{\Pi}{6}$ (104, 200)

- $\frac{\text{longueur} \times \text{largeur}^2}{2}$ (188)

En effectuant le rapport $\frac{\text{VTM jour J}}{\text{VTM initial } (J_1)}$, nous obtenons le volume tumoral moyen relatif (VTMR) par lot, dont l'évolution dans le temps se traduit par une courbe permettant alors la comparaison des traités et des contrôles : une activité antitumorale est significative quand $\frac{\text{VTMR Traités}}{\text{VTMR Contrôles}} \leqslant 42\ \%$ en fin d'expérimentation (188)

Les courbes sont reproduites suivant des coordonnées semi-logarithmiques, à partir des différents VTMR, calculés tous les 2 jours.

Lorsqu'un animal meurt, les VTMR ultérieurs $\frac{(\text{VTM jour j})}{(\text{VTM jour initial})}$ sont établis en supprimant, dans le calcul du VTM initial, le volume de la tumeur portée le jour initial par l'animal. Nous avons ainsi des VTMR toujours comparables, quel que soit le nombre d'animaux intervenant dans les mesures.

d) Jour d'évaluation finale :

Nous l'avons fixé à J_{30} (J_1 = début chimiothérapie) ce qui est comparable au J_{20} du carcinome colique murin C 38 du programme de screening N. C. I.. Nous effectuons alors :

- Une mesure finale des tumeurs ;
- Une autopsie des animaux, avec recherche et étude des éventuelles métastases ou de l'invasion loco-régionale ; nombre, emplacement volume, index mitotique, degré de malignité et de différenciation histologique sont étudiés.

- Une exérèse de toutes les tumeurs, permettant un examen macroscopique, et des prélèvements, destinés à l'examen microscopique et à l'établissement du caryotype.

Ces examens sont indispensables car la seule comparaison des volumes tumoraux ne reflète pas toujours les effets de la chimiothérapie (216) : on peut sans le savoir mesurer une tumeur nécrosée, une réaction inflammatoire suppurée ou fibreuse, une production tumorale (kératine, Mucus etc). Enfin ces examens permettent l'étude de l'éventuelle dérive morphologique.

Les tumeurs "contrôles" (non-traitées) font de plus l'objet de prélèvements conservés dans l'azote liquide ou dans un congélateur type ménager, et servent de matière première pour la préparation de l'inoculum destiné au passage suivant.

V - RESULTATS

1°) TRANSPLANTATIONS

a) Transplantations de tumeurs "fraîches" (non conservées par le froid)

Nous avons greffé 7 cancers : 4 cancers rectaux et 3 cancers coliques. Le premier, un cancer rectal, n'a pas été décrit dans le chapitre "Matériel" : en effet cet adénocarcinome n'a pas poussé après sa transplantation, et seuls des abcès se sont développés aux points d'implantation. D'autre part l'examen microscopique des fragments de la tumeur primitive ne montra pas de territoire néoplasique, mais seulement une muqueuse normale. Enfin, le même examen des "tumeurs" portées par les souris ne montra pas non plus de cellules cancéreuses.

Le Tableau I résume la situation actuelle des cancers transplantés :

ORIGINE	NOMBRE	PRIMO-TRANSPLANTATIONS REUSSIES	RANG ACTUEL DE PASSAGE
COLON	3	3/3	2 à 6 pour 3/3
RECTUM	4	3/4	2 pour 2/4

Tableau I : Résultats globaux de transplantations.

Tous les cancers coliques transplantés ont été passés au moins 2 fois en série, et 2 cancers rectaux sur 4 l'ont été.

Le Tableau II donne le détail de chaque transplantation : Le nombre de souris est relativement constant (environ 40 à 2 exceptions près), leur âge à la greffe varie de 3 à 11 semaines (âge moyen : 6 semaines). Cette variation de l'âge semble avoir eu peu d'influence sur la réussite des primo-transplantations, comme sur celle des passages en série.

TABLEAU II

TRANSPLANTATIONS DE TUMEURS "FRAICHES"

(transplantation extemporanée, sans conservation par le froid)

	NBRE SOURIS	AGE (sem)	INOCULUM (ml/an.)	TPS DE MANIP.	LATENCE (jours)	P.CENT DE PRISE
C3-1	41	5à6	0,5	3h	24	68,85
C3-2	57	5à6	0,3	1h30	17	84,2
C3-3	41	6à7	0,5	2h	20	65,5
C3-3'	41	8à9	0,5	2h	NE	31
C3-4	41	4à5	0,5	2h30	15	90,2
C3-5	41	4	0,5	1h40	15	46,15
C3-5'	40	5à6	0,5	1h	15	70
C3-6	42	6à7	0,5	1h40	15	88,1
R4-1	41	4à5	0,5	3h	11	48,8
S6-1	41	5à6	0,5	2h40	135	19,5
S6-2	15	5à6	0,5	50mn	8	73,3

TRANSPLANTATIONS DE TUMEURS "FRAICHES" (suite)

	NBRE SOURIS	AGE (sem)	INOCULUM (ml/an.)	TPS DE MANIP.	LATENCE (jours)	P.CENT DE PRISE
R10-1	41	7à8	0,5	2h40	30	65,85
R10-2	42	3à4	0,5	1h40	19	73,8
CA10-1	41	5à6	0,5	2h10	20	78,05
CA10-2	41	5à6	0,3	2h	12	71
CA10-3	37	4à5	0,5	1h30	6	92
R12-1	41	10à11	0,5	3h30	23	73,2

Nous avons essayé de rendre le temps de manipulation, qui sépare l'exérèse (chez le patient ou chez les souris du lot contrôle du passage précédent) de la greffe, aussi bref que possible. Il est plus élevé pour les primo-transplantations, en raison du trajet du CHU-Rangueil au Laboratoire SANOFI. Il varie de 50 mn à 3 H 30, sans affecter semble-t-il le taux de réussite.

Le temps de latence des greffons est de 22 jours en moyenne pour les cancers coliques C3 et CA10, 21 jours pour les cancers rectaux R4, R10 et R12. Il diminue au cours des passages en série, 24 jours pour C3-1, 15 jours pour C3-6. (Pour C3-3', il n'a pu être évalué (NE) en raison de la mortalité ou de la morbidité liées à l'évolution de réactions inflammatoires suppurées. Les nodules tumoraux se développèrent chez les survivants à la périphérie des foyers suppurés ou sur des cicatrices d'abcès.)

Le pourcentage de prise $\left(\frac{\text{Nombre de souris positives}}{\text{Nombre de souris greffées}} \times 100\right)$ est en moyenne de 67,3 ± 10,7 pour les cancers coliques, et de 66,6 ± 5,6 pour les cancers rectaux, tous passages confondus. Ce pourcentage augmente avec les passages.

Ces premiers tableaux montrent un taux de primo-transplantation et de passages réussis plus élevé des tumeurs coliques et un pourcentage de prise plus régulier des cancers rectaux (écart-type inférieur). Il est vrai que ceux-ci ont fait, à ce jour, l'objet d'un nombre de passages en série inférieur.

Un cas particulier est cependant représenté par S6 : ce cancer a eu un temps de latence exceptionnellement long au 1er passage (135 jours), qui fut ramené à 8 jours au 2ème passage : ceci représente une diminution de 94 %.

Cette diminution s'accompagne d'une augmentation très nette du pourcentage de prise, qui passe de 19,5 à 73,3. Cependant, ces changements de résultats bruts de transplantations ne se sont pas accompagnés d'une variation de la vitesse de croissance. En effet, ce cancer a une croissance très lente et la taille réduite des nodules tumoraux ne nous a pas encore permis, 2 mois et demi après la 2ème transplantation, de greffer un lot de 40 souris. C'est pourquoi nous n'avons pu étudier que ses caractères morphologiques, et non sa chimiosensibilité.

b) Transplantations de tumeurs conservées par le froid

L'utilisation à des fins de screening des tumeurs validées (c'est à dire, rappelons-le, répondant à une double exigence de stabilité et de reproductibilité de leurs caractéristiques) suppose l'existence d'une "banque". Cette réserve de matériel peut être "vivante" (cancers conservés in vivo par passages en série) ou bien "froide" (cancers conservés par le froid, dans l'azote liquide par exemple).

Pour des raisons économiques évidentes, la banque froide présente des avantages indéniables. Comme l'indique clairement la colonne "Résultats" du Tableau III, nous n'avons pas réussi à ce jour à établir cette banque froide, malgré la diversité des prélèvements et de leurs conditions générales de conservation.

TABLEAU III

TRANSPLANTATIONS DE TUMEURS

CONSERVEES PAR LE FROID

NATURE DU PRELEVEMENT	MODE DE CONSERVATION	DUREE	NBRE ANIM	AGE en SEM	RESULTATS
C3	bouillie ds Eagle +AB1 +10% DMSO	N2 liquide	5mois	2	6à7	NEGATIF
R4	idem	idem	4mois	2	6à7	NEGATIF
S6	idem	idem	3mois	10	6à7	NEGATIF
C3-2	idem	congélateur ménager	2mois	2	6à7	NEGATIF
C3-3	bouillie dans Eagle + AB1	idem	3sem	12	6à7	NEGATIF
C3-3	bouillie ds Eagle + AB1 +10% DMSO	idem	3sem	11	6à7	NEGATIF
C3-3	bouillie ds Eagle + AB1 +20% DMSO	idem	3sem	4	6à7	NEGATIF
C3-3	bouillie ds Eagle + AB1 +30% DMSO	idem	3sem	4	6à7	NEGATIF
C3-4	bouillie dans	idem	3sem	5	4à5	NEGATIF
	Eagle +AB1	N2 liquide	3sem	10	4à5	NEGATIF

AB1= 100 UI PENICILLINE + 50 µg STREPTOMYCINE (par ml)

TRANSPLANTATIONS DE TUMEURS

CONSERVEES PAR LE FROID (suite)

	NATURE DU PRELEVEMENT	MODE DE CONSERVATION	DUREE	NBRE ANIM.	AGE en SEM.	RESULTATS
CA10	bouillie dans Eagle +AB1 +30% DMSO	N2 liquide congélateur ménager	4sem	3	4à5	NEGATIF
			4sem	3	4à5	NEGATIF
R10	idem	N2 liquide congélateur ménager	4sem	10	4à5	NEGATIF
			4sem	5	4à5	NEGATIF
C3-5'	susp.cell. ds Eagle+ AB1+10%DMSO	N2 liquide	3sem	42	4à5	NEGATIF

2°) CHIMIOTHERAPIE

Ces résultats sont tout d'abord présentés sous forme des courbes d'évolution des Volumes Tumoraux Moyens Relatifs par lot :

$$\left(VTMR = \frac{\text{Volume Tumoral Moyen jour n}}{\text{Volume Tumoral Moyen initial}} \right)$$

Ces courbes sont établies à partir du relevé des mesures pendant 30 jours, dont le Tableau IV est un spécimen.

Les figures 1 à 4 concernent le cancer colique C3 : au cours des passages, l'inhibition de croissance excercée par le CCNU et l'absence de toute inhibition par le traitement au 5-FU sont constantes. De plus, la pente de la courbe du lot Contrôle ne cesse de croître du 1er au 5ème passage.

La figure 5 concerne le cancer rectal R4. Cet adénocarcinome a présenté une régression spontanée qui a empêché un 2ème passage

TABLEAU IV

C3-1 : MESURES DES VOLUMES TUMORAUX (J1 = 14-04-83)

(en cm^3)

	CONTROLE		LOT 1	LOT 2	LOT 3	LOT 4
	0,096	0,051	1,694	3,613	0,336	0,54
	0,484		1,12	0,7	0,645	0,424
J1	1,968		0,432	0,032	0,256	0,09
	0,36		0,156	0,54	0,016	0,567
	2,548		0,179	0,216	1,512	1,512
	0,32					
	0,144	0,44	0,299	4,068	0,762	1,242
	3,564		0,756	0,256	2,106	0,7
J4	0,128		3,348	0,324	0,42	0,624
	0,936		0,196	0,256	0,256	0,147
	2,496		2,55	0,75	0,75	0,368
	0,016					
	0,126	0,819	1,38	0,09	2,28	0,5
	0,112		0,77	0,4	0,65	0,54
J6	3,198		3,372	0,216	0,4	0,09
	1,08		0,255	7,304	0,224	0,251
	3,402		0,256	0,9	0,03	2,07
	0,032					
	0,108	0,06	0,629	6,51	0,224	0,52
	0,924		1,54	0,108	0,52	1,512
J8	0,147		0,84	0,112	2,223	0,352
	4,164		0,288	0,45	0,075	0,5
	4,408		4,64	1,056	0,288	0,126
	0,756					
	5,1	0,672	1,716	11,464	0,84	0,48
	5,8		0,78	1,76	0,05	0,5
J11	0,147		0,45	0,72	0,256	0,61
	0,288		5,824	0,168	1,824	0,108
	1,728		0,816		0,252	1,197
	0,108					
	6,33		1,008	0,245	0,07	0,486
	0,126		2,475	11,04	0,28	0,385
J13	1,92		0,63	1,008	0,594	0,266
	0,168		7,29	1,52	0,168	1,008
	6,6		1,056		1,87	0,108
	0,96					

Spécimen de relevé des volumes tumoraux, calculés à partir des mesures effectuées dans l'isolateur. Toutes les mesures et tous les volumes sont notés dans les cahiers de laboratoire, fournis par le Service Assurance de Qualité.

en série. Les courbes des VTMR sont ininterprétables. Cette tumeur a disparu d'elle-même en tant que xénogreffe.

La figure **6**, donnée à titre indicatif seulement, concerne le dernier cancer greffé, R12, à son 1er passage. Si sa chimiosensibilité se maintient au cours des passages, R12 sera alors, pour ce critère, identique à C3 : nous aurons ainsi 2 cancers insensibles au 5-FU (surtout 45 mg/kg) et très sensibles au CCNU, même à faible dose.

Les figures 7 et 8 montrent l'évolution de CA10 du 1er au 2ème passage : CA10-1 a un lot contrôle poussant moins bien que les lots 2,3 et 4. Cette différence de croissance tumorale donnera lieu à des tentatives d'explications après étude histologique. CA10-2, au contraire, a une croissance du lot contrôle supérieure à celle des 4 lots traités, dont un (lot n° 2) présente une inhibition de croissance significative. L'examen microscopique nous fournira des indications permettant d'expliquer cette évolution. Les passages en série ultérieurs de CA10 nous permettront de valider ou non ce cancer, car rappelons-le, seules des tumeurs validées pourront être utilisées à des fins de screening.

Les figures **9** et **10** de R10 sont comparables et montrent une faible inhibition de croissance tumorale par le 5-FU comme par le CCNU, semblable à celle exercée sur CA10-2.

Sous réserve de confirmation de la chimiosensibilité de CA10 à son 3ème passage, ces 2 cancers constitueront un couple très modérément sensible aux 2 drogues choisies.

Pour les raisons précédemment décrites, il n'y a actuellement pas de courbes d'évolution des VTMR de S6.

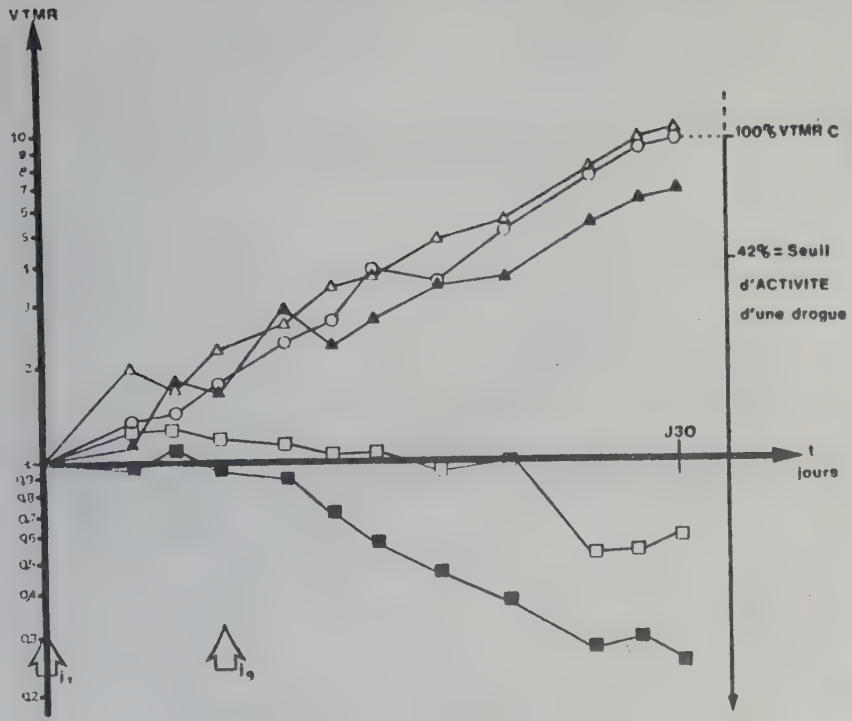


Figure 1 : Adénocarcinome colique C3-1

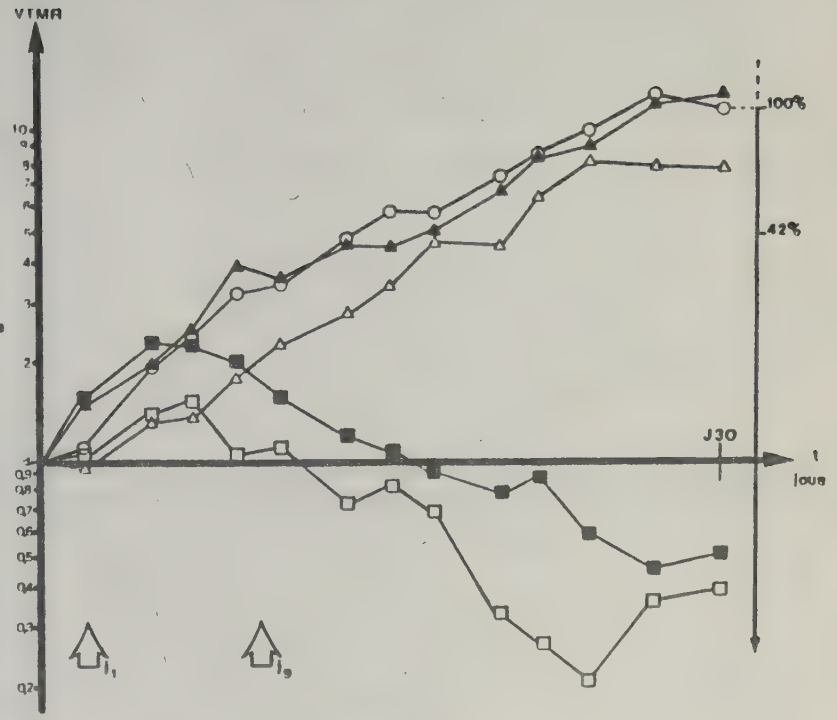


Figure 2 : Adénocarcinome colique C3-2

○—○ : Lot Contrôle
△—△ : Lot 1 (5-FU, 45 mg/kg)
▲—▲ : Lot 2 (5-FU, 90 mg/kg)
□—□ : Lot 3 (CCNU, 30 mg/kg)
■—■ : Lot 4 (CCNU, 50 mg/kg)
⇧ : Injection i.p

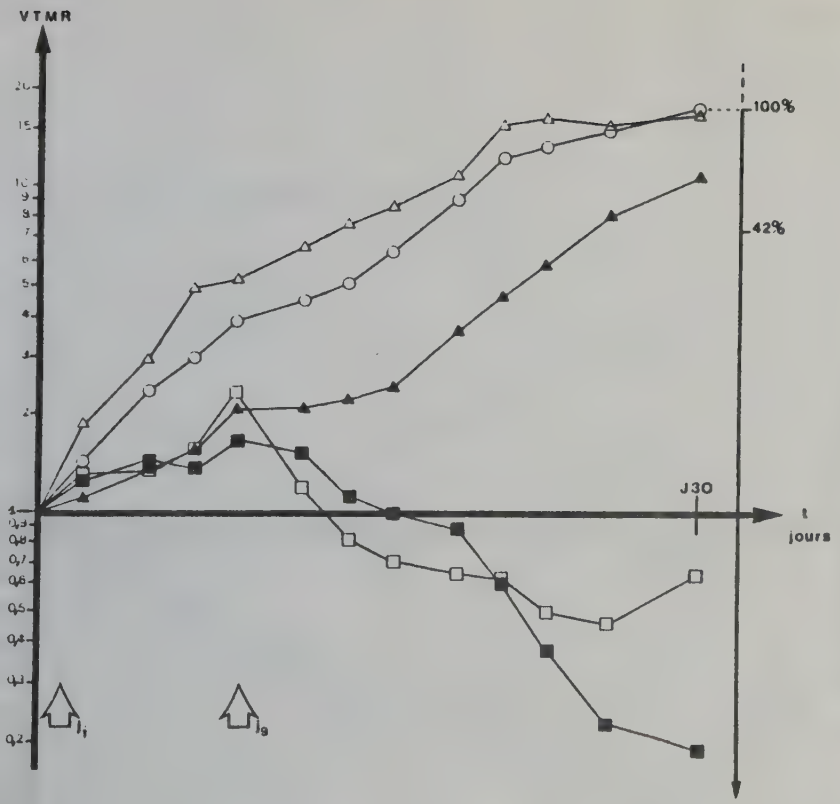


Figure 3: Adénocarcinome colique C3-4

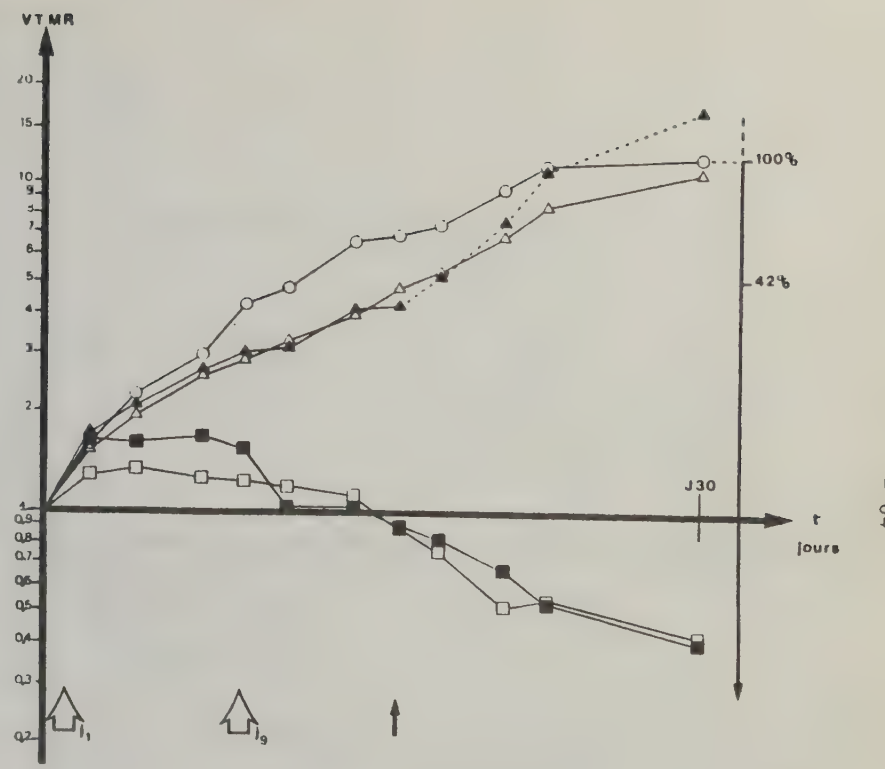


Figure 4 : Adénocarcinome colique C3-5'

○—○ : Lot Contrôle

△—△ : Lot 1 (5-FU, 45mg/kg)

▲—▲ : Lot 2 (5-FU, 90mg/kg)

□—□ : Lot 3 (CCNU, 30mg/kg)

■—■ : Lot 4 (CCNU, 50mg/kg)

⇧ : I_1 I_9

↑ : La courbe d'évolution du VTMR du lot 2 est représentée en pointillés à partir de ce jour (J_{16}) : en effet ce "lot" n'est plus constitué alors que d'1 seul animal. La mortalité observée est due au cannibalisme, sans morbidité antérieure des animaux dévorés. La courbe est ainsi donnée à titre purement indicatif.

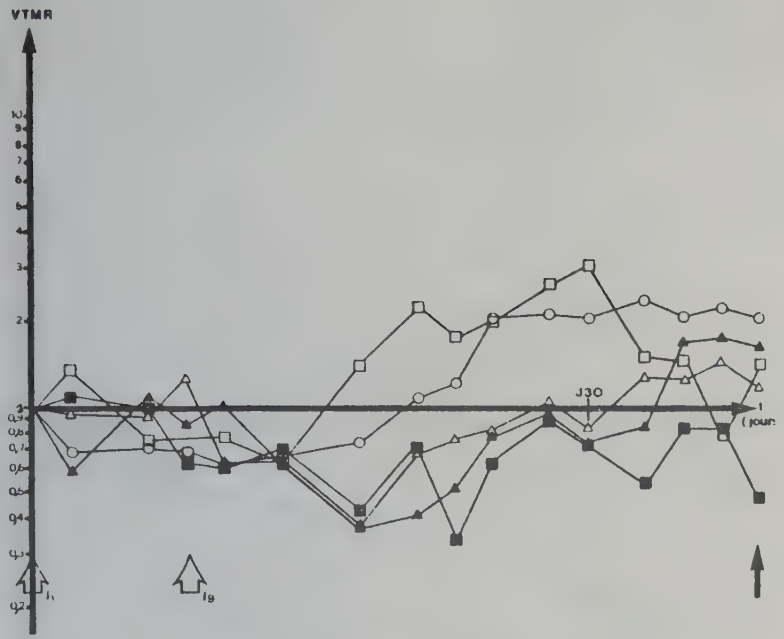


Figure 5: Adénocarcinome rectal R4-1

Arrêt des mesures, sacrifice des lots traités, conservation du lot Contrôle. L'évolution ultérieure du VTMR de ce lot, non représentée, montra la régression spontanée des greffons, confirmée par l'examen histologique.

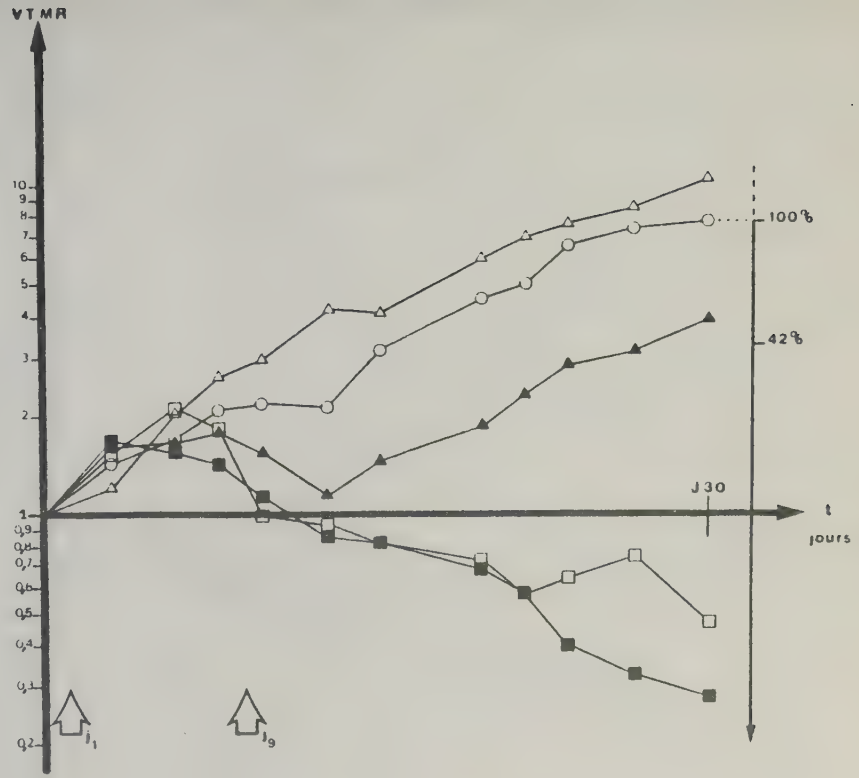


Figure 6 : Adénocarcinome rectal R12-1

○—○ : Lot Contrôle
△—△ : Lot 1 (5-FU, 45mg/kg)
▲—▲ : Lot 2 (5-FU, 90mg/kg)
□—□ : Lot 3 (CCNU, 30mg/kg)
■—■ : Lot 4 (CCNU, 50mg/kg)
⇧ : Injection Ip

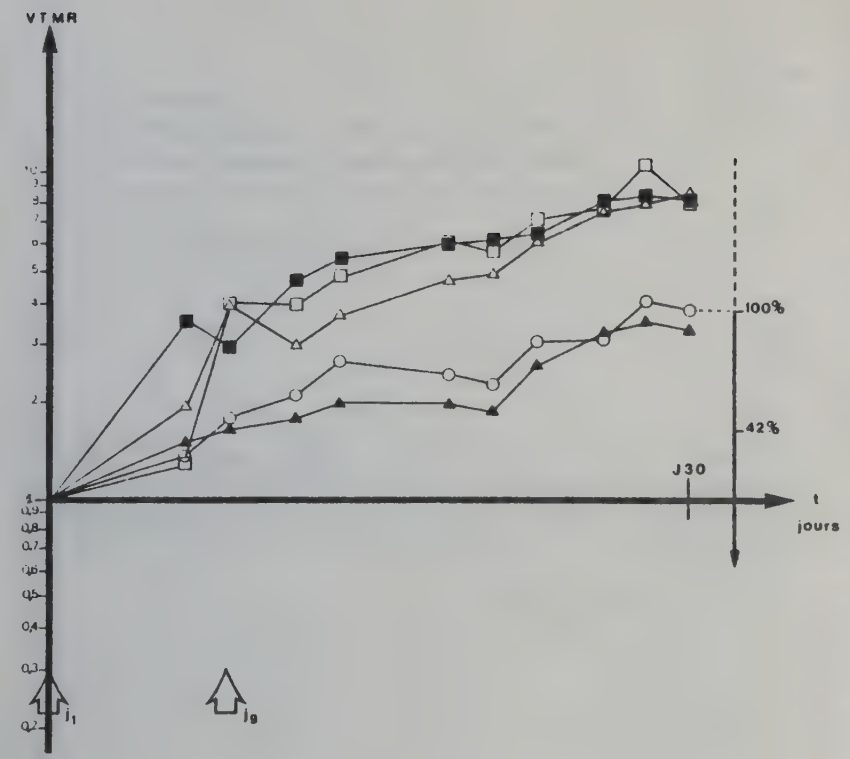


Figure 7 : Adénocarcinome colique CA10-1

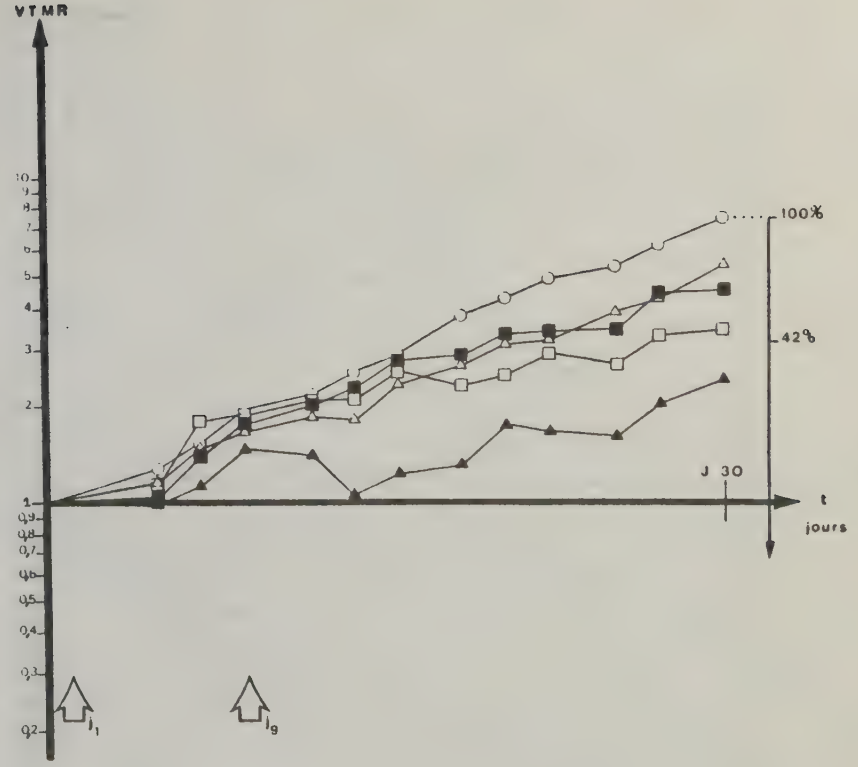


Figure 8 : Adénocarcinome colique CA10-2

- : Lot Contrôle
- : Lot 1 (5-FU, 45mg/kg)
- : Lot 2 (5-FU, 90mg/kg)
- : Lot 3 (CCNU, 30mg/kg)
- : Lot 4 (CCNU, 50mg/kg)

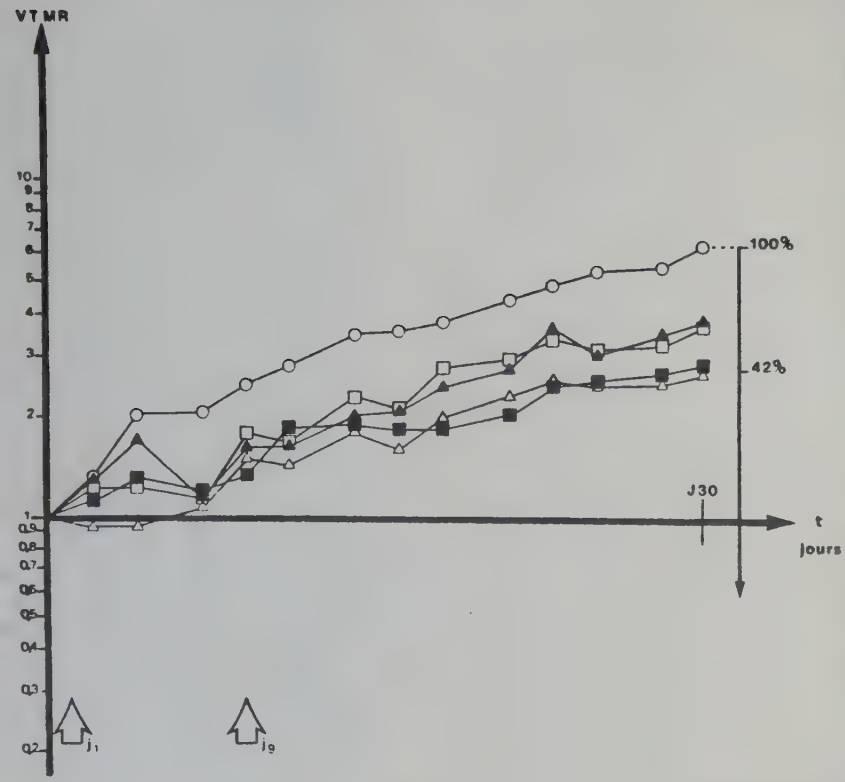


Figure 9 : Adénocarcinome rectal R10-1

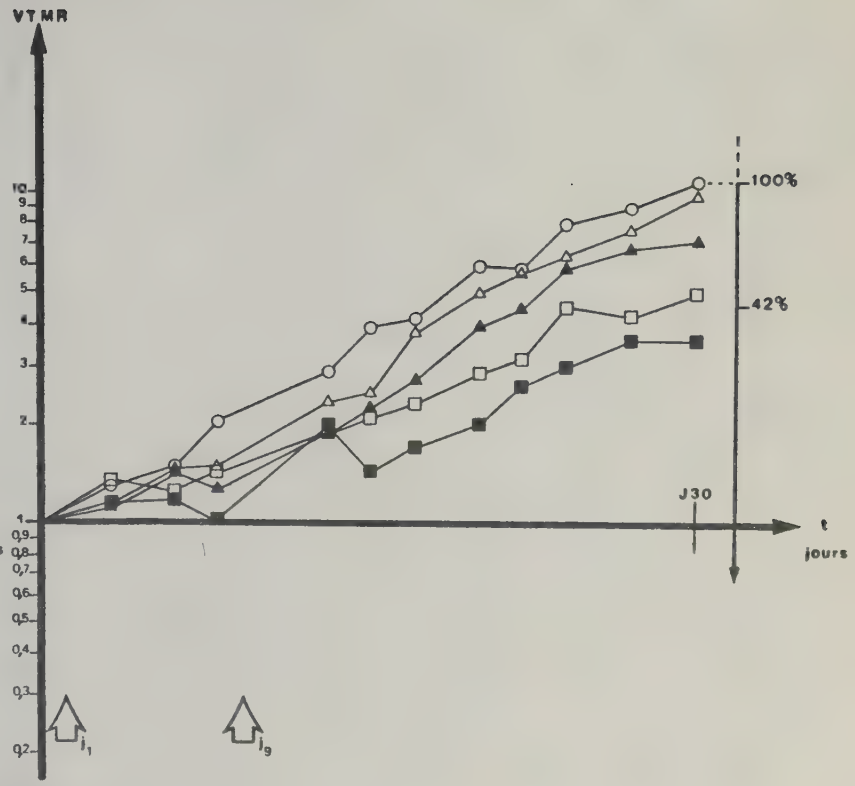


Figure 10: Adénocarcinome rectal R10-2

○—○ : Lot Contrôle

△—△ : Lot 1 (5-FU, 45mg/kg)

▲—▲ : Lot 2 (5-FU, 90mg/kg)

□—□ : Lot 3 (CCNU.30mg/kg)

■—■ : Lot 4 (CCNU.50mg/kg)

⇧ : Injection i.p

Les VTMR finaux (VTMRF = $\frac{\text{VTM J30}}{\text{VTM initial}}$) voient leur évolution au cours des passages présentée par lot et par cancer dans le Tableau V. Le VTMRF Contrôle ("Lot C") des différents carcinomes augmente avec les transplantations successives. Ceci est à mettre en relation avec l'accroissement de la pente de sa courbe.

La sensibilité d'une tumeur à une drogue, ou à une posologie donnée d'une drogue, peut aussi être perçue en première approximation dans le Tableau V : les VTMRF du ou des lots traités par cette drogue sont stables (R10 pour 5 FU et CCNU, C3 pour CCNU) et inférieurs aux VTMRF Contrôles.

Mais l'activité d'une drogue et par là la sensibilité d'une tumeur sont considérées comme significatives quand le rapport T/C = $\frac{\text{VTMRF Traités}}{\text{VTMRF Contrôles}} \times 100 \leqslant 42$ (Réf. : 188) :

Le Tableau VI nous permet d'objectiver les résultats pressentis à la vue des figures 1 à 10. Le cancer C3 montre une sensibilité significative nette et constante vis à vis du CCNU. R10 est peu sensible aux 2 drogues choisies ; quant à CA 10 sa sensibilité au 5-FU est tout juste significative (sous réserve de confirmation de ce résultat comme nous l'avons dit). Enfin, R12 n'ayant fait l'objet que d'une seule transplantation, sa chimio-sensibilité demande à être vérifiée au cours des passages ultérieurs.

Ces résultats sont tirés des mesures finales des nodules tumoraux, à J30. Il est intéressant de les comparer aux résultats que l'on aurait obtenus à J15 et à J20 (Tableau VII). Un lot très sensible, ou complètement insensible à une dose d'une drogue, manifeste dès J15 cette chimio-sensibilité, et ce d'une manière significative (respectivement lots 3 et 4 de C3 et de R12, lots 1 et 2 de C3 et lot 2 de R12-1). Par contre, une sensibilité "marginale" (c'est-à-dire décelable mais non statistiquement significative), ou faiblement significative, demande 30 jours d'évaluation (Lot 2 de R12-1 et de CA10-2, Lot 4 de R10).

TABLEAU V

VOLUMES TUMORAUX MOYENS RELATIFS FINAUX (VTMRF)

	C	5 - F U		C C N U	
		LOT 1	LOT 2	LOT 3	LOT 4
C3-1	9,6	10,1	6,71	0,59	0,24
C3-2	11,76	7,96	13,09	0,4	0,52
C3-4	17,67	16,9	10,8	0,65	0,19
C3-5'	11,9	10,7	16,6 *	0,41	0,4
CA10-1	3,71	8,53	3,23	7,8	7,87
CA10-2	7,4	5,3	2,35	3,4	4,4
R10-1	6,68	2,72	3,96	3,82	2,9
R10-2	10,88	9,77	7,09	4,95	3,53
R12-1	7,61	10,33	3,83	0,45	0,27

* : CETTE VALEUR NE REPRESENTE EN FAIT QUE LE RAPPORT VOLUME TUMORAL FINAL / VOLUME TUMORAL INITIAL DE LA TUMEUR PORTEE PAR 1 ANIMAL, LE SEUL SURVIVANT A PARTIR DE J16 POUR CAUSE DE CANNIBALISME .

TABLEAU VI

RAPPORTS VTMRF (TRAITES) x100 / VTMRF (CONTROLES):

ACTIVITE SIGNIFICATIVE SI $\leqslant 42$ %.

	5 - F U		C C N U	
	LOT 1	LOT 2	LOT 3	LOT 4
C3-1	105,2	69,9	6,15	2,5
C3-2	67,7	111,3	3,14	4,42
C3-4	95,6	61,1	3,68	1,06
C3-5'	90	140 *	3,45	3,36
CA10-1	230	87	210	212
CA10-2	71,6	31,8	46	60
R10-1	40,7	59,3	57,2	43,4
R10-2	89,8	65,2	45,5	32,4
R12-1	135,7	50,3	5,91	3,52

* : même remarque que pour le Tableau V

TABLEAU VII

RAPPORTS T/C % , CALCULES A J15 ET J20

COMPARES AUX T/C % FINAUX , CALCULES A J30.

		5 - F U		C C N U	
		LOT 1	LOT 2	LOT 3	LOT 4
C3-1	J 15	110	74	33	20
	J 20	106	70	24	11
	J 30	105	70	6,2	2,5
C3-2	J 15	60	80	14	18
	J 20	61	90	4	10
	J 30	68	111	3,4	4,4
C3-4	J 15	144	41	13,5	13,5
	J 20	122,5	38,5	6	7
	J 30	95,6	61,1	3,7	1,1
C3-5'	J 15	64,3	64,3	14,3	12,8
	J 20	72	78,7	6,5	6,7
	J 30	90	140	3,5	3,4
R12-1	J 15	129	46,8	25,3	25,3
	J 20	134	41,1	15,8	15,1
	J 30	135,7	50,3	5,9	3,5

RAPPORT T/C % = RAPPORT VTMRF TRAITES x 100 / VTMRF CONTROLES

SUITE DU TABLEAU PRECEDENT

		5 - F U		C C N U	
		LOT 1	LOT 2	LOT 3	LOT 4
CA10-1	J 15	146	75	192	215
	J 20	204	83	252	265
	J 30	230	87	210	212
CA10-2	J 15	77,8	42,6	85,2	92,6
	J 20	71,2	37,5	61	77,5
	J 30	71,6	31,8	46	60
R10-1	J 15	48	57,5	62	52
	J 20	52	64	70	46,5
	J 30	40,7	59,3	57,2	43,4
R10-2	J 15	65,5	59	55	38
	J 20	82,3	66,3	47,6	36,2
	J 30	89,8	65,2	45,5	32,4

3°) MORPHOLOGIE

a) Etude macroscopique

- Tumeurs "Contrôles" :

Leurs caractéristiques macroscopiques ont assez peu retenu notre attention. En effet, quel que soit l'aspect des cancers primitifs, il devient uniforme et constant après un passage chez la Nude : toute appréciation macroscopique d'une éventuelle dérive morphologique devient ainsi impossible.

Les tumeurs sont grossièrement sphériques, bosselées, mobiles sous la peau et légèrement recouvertes d'un fin tissu conjonctif lâche. Elles apparaissent parcourues, en surface seulement, par un réseau vasculaire plus ou moins développé. Le tissu cancéreux vivant est gris rosé, brillant, assez ferme à la coupe : il rappelle ainsi fortement le tissu cancéreux primitif (photo 1).

Les tumeurs sont toujours apparues nécrosées en leur centre, à partir d'un diamètre de 1 à 2 cm : ceci est à mettre sur le compte de l'état avasculaire de leur centre, entraînant anoxie puis mort cellulaire. Ce centre nécrotique possède souvent 2 composantes : une composante liquide, jaunâtre et grumeleuse, présente dans les grosses tumeurs (> 5 cm^3), et une composante solide d'aspect caséeux (photo 5).

Avec les passages en série, le Volume Tumoral Moyen Relatif Final augmente, et les tumeurs montrent une proportion croissante de territoire nécrosé : ceci réduit la quantité de tissu vivant. Les très grosses tumeurs (> 10 cm^3) sont alors presque totalement nécrosées, ne possédant qu'une "coque" de tissu vivant épaisse de 1 à 3 mm seulement. On dispose ainsi, malgré le volume croissant des nodules tumoraux avec les passages, d'une quantité de matériel vivant en diminution, ou au maximum constante.

Ces phénomènes ont été rencontrés quel que soit le cancer que nous ayons greffé.

- Tumeurs "Traitées" :

Leur étude macroscopique ne nous a fourni aucune information autres que celles déduites de l'évolution de leur croissance : une tumeur significativement sensible à une drogue se présente sous forme de nodules de taille réduite, et une tumeur peu sensible ou insensible montre des nodules en tous points identiques aux nodules portés par les animaux "contrôles".

b) Etude microscopique

Elle a été effectuée en microscopie photonique exclusivement, à l'aide des techniques histologiques classiques (Hélamun- Eosine, Trichrome de Masson).

Nous distinguerons l'étude des lots contrôles, destinée à l'appréciation dè l'éventuelle dérive morphologique, de celle des lots traités, qui permet l'évaluation des lésions induites par la chimiothérapie.

- Tumeurs Contrôles :

Elles ont été systématiquement comparées au cancer d'origine, à tous les passages. Tous les cancers greffés ont gardé leur morphologie primitive au cours des transplantations successives, sauf CA10 (et bien sûr R4 qui régressa spontanément). L'exemple le plus marquant est donné par C3-5' dont les caractères histologiques sont toujours identiques à C3 après 5 passages successifs (photos 2 à 4).
CA10 est un cas particulier, comme l'avait montré l'étude de sa chimio-sensibilité au 1er passage : CA10-2 en général, et les lots traités de CA10-1, sont identiques à CA10. Par contre, le lot contrôle de CA10-1 est assez différent : il montre des cordons cellulaires peu nombreux, constitués d'un nombre réduit de cellules, sans grande activité mitotique.

Cette faible cellularité, jointe à de rares mitoses, est à relier à la croissance tumorale réduite de ce lot au 1er passage, présentée précédemment. Enfin, au 2ème passage, le lot contrôle est histologiquement très comparable au cancer primitif.

Ces paradoxes peuvent avoir plusieurs explications. La plus vraisemblable réside en l'hétérogénéité de l'inoculum : le lot contrôle de CA10-1 comprenait 5 animaux. A raison de 0,5 ml de bouillie injectée par animal, ceci représente 1/2 seringue de 5 ml. Les souris contrôles ont pu recevoir beaucoup plus de milieu de Eagle (servant à la préparation de l'inoculum) que de fragments cancéreux :

- soit parce que la seringue contenait plus de milieu que de fragments, par défaut de soin porté à son remplissage ;

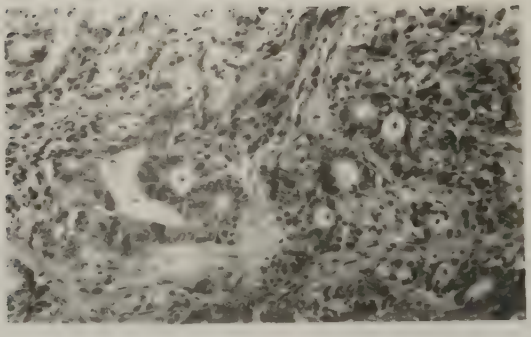
- soit plutôt parce que la seringue était restée inclinée canon vers le haut avant son utilisation, entraînant la sédimentation des fragments (ou à l'inverse, vers le bas avant la greffe des souris de la cage précédente, ...).

- Tumeurs "Traitées" :

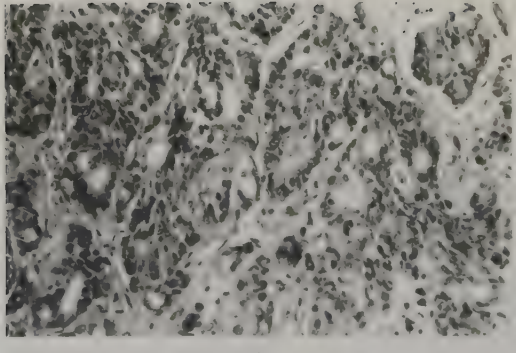
La microscopie a confirmé la macroscopie : les greffons des lots à activité de la drogue faible, moyenne ou nulle ont un aspect histologique identique à celui des lots contrôles (et par là, à celui du cancer d'origine) : tissu cancéreux vivant périphérique à architecture inchangée, et nécrose centrale (photo 5)

Les greffons des lots à forte activité de la drogue présentent un aspect particulier : au faible grossissement, le tissu cancéreux dessine au sein du nodule un réseau peu dense, noyé dans du tissu fibreux (photo 6). Au fort grossissement, les lumières des tubes apparaissent considérablement élargies (images de vésicules), avec rétraction des massifs cellulaires et présence d'amas éosinophiles de nature nécrotique. Les cellules cancéreuses montrent un noyau picnotique et un cytoplasme éosinophile : ceci est vraisemblablement dû à une nécrose de coagulation. Cet aspect se rencontre principalement dans les lots 3 et 4 de C3 (photos 7 et 8).

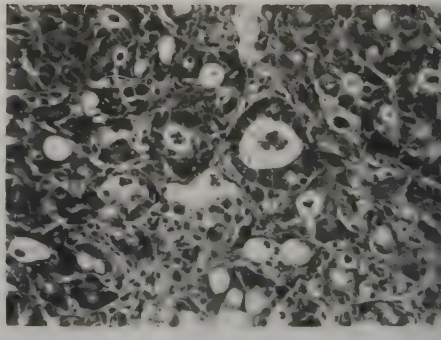
1



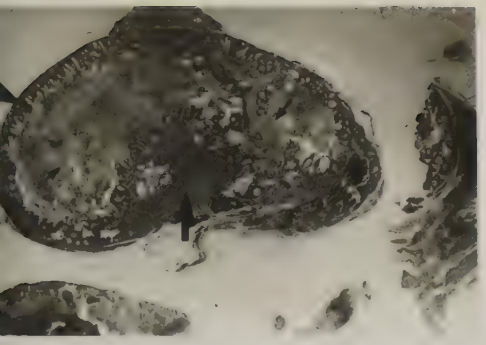
2



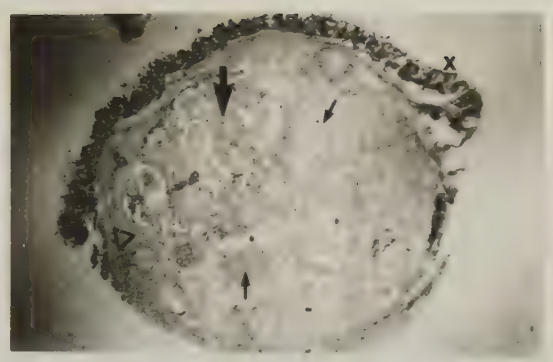
3



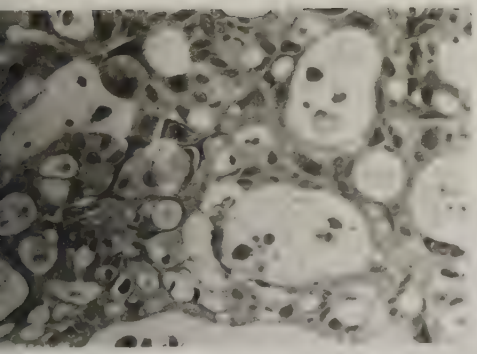
4



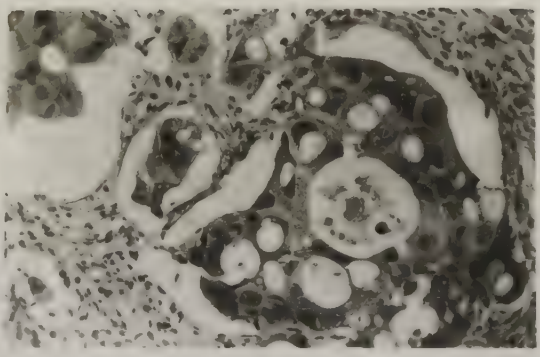
5



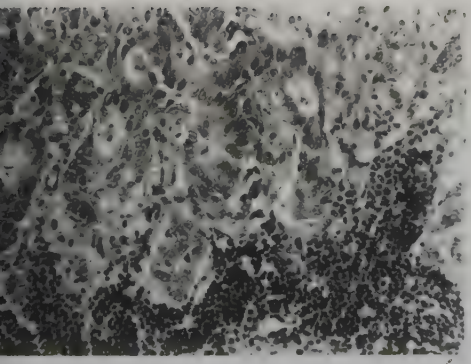
6



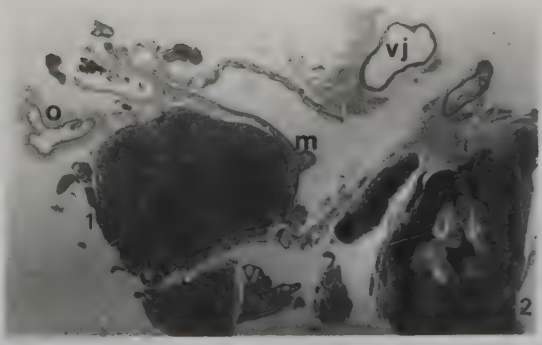
7



8



9



10

Photo 1 : Souris Nude âgée de 11 semaines portant un greffon R10-2 depuis 6 semaines
(volume tumoral ≃ cm3)

Photo 2 : Carcinome colique C3 (HE x 200)

Photo 3 : C3-3, Lot Contrôle (HE x 200)

Photo 4 : C3-5', Lot Contrôle (HE x 200)

Photo 5 : C3-2, Lot Contrôle (HE x 20)
(Nécrose centrale : ↑ , Tissu cancéreux vivant : ↑)

Photo 6 : C3-2, Lot 4 (HE x 20) - (Nécrose diffuse : ↑
Fibrose : △ , Tissu cancéreux : ↑ , X : peau de la souris)

Photo 7 : C3-4, Lot 3 (HE x 200)

Photo 8 : C3-4, Lot 4 (HE x 200)

Photo 9 : C3-3, Lot Contrôle (MASSON x 200)
Invasion du ganglion axillaire

Photo 10 : C3-2, Lot Contrôle (HE x 16) : Métastase Médiastinale (1) et Ganglionnaire (2)
(M : Médiastin, O : Oesophage, VJ : 1 Veine Jugulaire)

4° INVASION LOCALE ET REGIONALE, METASTASES

L'invasion locale n'a jamais été rencontrée, bien que les tumeurs soient au contact direct de la paroi thoracique externe.

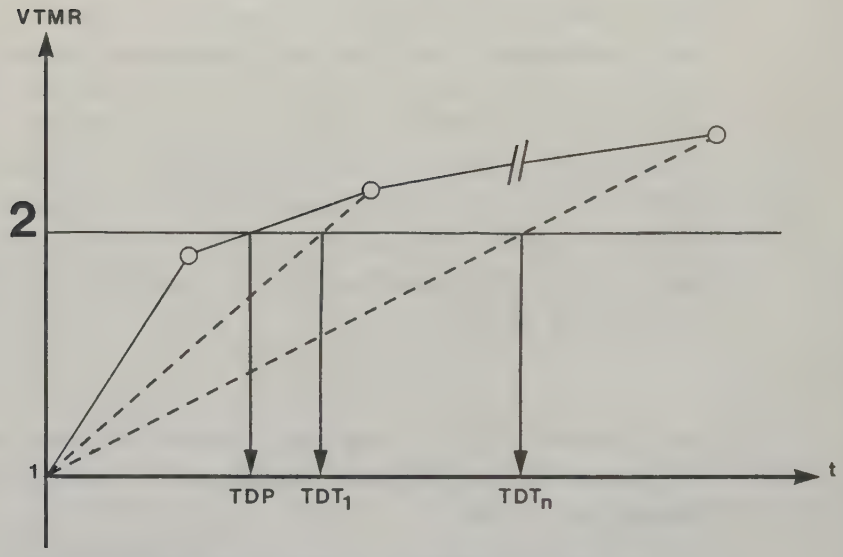
L'invasion régionale a été observée chez 3 souris. Le ganglion axillaire en était le siège. Dans un cas, il était à la fois comprimé d'un côté (capsule visible et déformée) et envahi de l'autre (capsule invisible, travées de cellules cancéreuses pénétrant un tissu lymphoïde sans réaction) (photo 9). Dans les 2 autres cas, l'invasion était accompagnée d'une importante tuméfaction du ganglion : boule translucide de 0,5 cm de diamètre environ, à contenu citrin. L'examen microscopique a montré une mince couronne de cellules cancéreuses (identiques à celles du greffon) entourant un liseré lymphocytaire. La cavité contenait principalement du plasma et quelques cellules sanguines isolées. Ceci est peut-être la marque d'une congestion passive du ganglion, provoquée par la compression exercée localement par l'énorme greffon.

Les métastases ont été recherchées macroscopiquement chez tous les animaux de tous les lots, dans la cavité thoracique, sur les poumons et le foie.

Sur 286 souris examinées, 1 seule a présenté des métastases, au nombre de 2 (C3-2, lot contrôle) : 1'une siégeait sur le médiastin antérieur, l'autre s'était développée dans un ganglion voisin. Leur examen n'a pas montré de différence morphologique avec le greffon, ni avec C3 (photo 10).

5°) CINETIQUE DE CROISSANCE

Un moyen simple d'apprécier sa variation éventuelle et l'étude du temps de doublement (TD) du Volume Tumoral Moyen initial.
Ce TD peut être défini par 2 méthodes différentes, qui déterminent un TD pratique (TDP) et un TD théorique (TDT), comme l'indique le schéma suivant :



$$\overline{TDT} = \sum_{i=1}^{n} \frac{TDT_i}{n}$$

Cette moyenne des TDT_i permet de moduler l'influence d'éventuelles variations de la pente, d'une mesure à l'autre. Elle reflète mieux l'allure générale de la courbe que le TDP, qui peut donner de fausses indications. Ainsi le lot contrôle de R10-1 a un TDP de 4 jours, et de 8 jours au 2ème passage : ces valeurs peuvent laisser supposer que la pente de R10-1 est bien supérieure à celle

de R10-2. Il n'en est rien , car le TDT est de 8,2 pour R10-1 et de 8 au 2ème passage. Ceci est d'ailleurs vérifié par l'augmentation du VTMRF qui passe de 6,7 à 10,9.

Le Tableau VIII montre la diminution du TDTavec les passages, pour les lots contrôles, comme pour les lots traités totalement insensibles (lot 1 et 2 de C3, lot 1 de R12). Les lots très sensibles ne voient pas leur Volume Tumoral Initial doubler (lots 3 et 4 de C3 et R12). Enfin, les lots à sensibilité marginale montrent un TDTsupérieur à celui du lot contrôle.

		5 - F U		C C N U	
	LOT C	LOT 1	LOT 2	LOT 3	LOT 4
C3-1	8,2	7,6	10	/	/
C3-2	6,3	8,7	5,9	/	/
C3-4	5,6	4,9	9,7	/	/
C3-5'	5,3	6,8	6	/	/
CA10-1	13,6	7,6	15,5	6,9	6
CA10-2	10,2	13,1	26,5	14,8	12,8
R10-1	8,2	18,3	13,9	13,2	18
R10-2	8	9,1	10,4	12,9	13,9
R12-1	9,3	7,5	16,8	/	/

TABLEAU VIII TEMPS DE DOUBLEMENT DU VOLUME TUMORAL MOYEN INITIAL (JOURS)

6°) MORTALITE ET AFFECTIONS INTERCURRENTES

La mortalité est résumée par le Tableau IX, et détaillée par lot et par passage dans le Tableau X.

Tableau IX

		Animaux greffés	Animaux répartis en lots	Animaux morts pendant latence
Mortalité	Nbre	70 / 470	18 / 278	52 / 123
	%	14,9	6,5	42,3

Deux cas sont à examiner : la mortalité observée pendant les 30 jours d'évaluation de la chimiothérapie("animaux répartis en lots"), et la mortalité survenue immédiatement après la greffe ("Animaux morts pendant latence").

La mortalité pendant la chimiothérapie a frappé peu d'animaux. Ses causes se répartissent comme indiqué par le Tableau XI.

Tableau XI

	ANIMAUX		% DE LA MORTALITE
	Nbre	%	
Cachexie	9/278	3,23	50,0
Cannibalisme	4/278	1,44	22,2
Cause inconnue	5/278	1,8	27,8

La cachexie cancéreuse en est la cause principale, observée chez les souris portant de très grosses tumeurs (Lot C, 1 et 2 de C3 surtout) d'un volume égal ou supérieur à 10 cm^3. La privation métabolique exercée par le greffon tumoral à l'encontre de son hôte rappelle certains aspects de la maladie cancéreuse humaine.

Le cannibalisme n'a été rencontré qu'une fois, la souris responsable a dévoré les 4 autres animaux de son lot. Ceci explique la mortalité totale élevée dans ce lot (N° 2), alors que peu de différence de mortalité totale a été observée dans les 4 autres lots (Tableau X).

Enfin, la mortalité de "cause inconnue" peut être reliée à la toxicité des drogues, car elle n'a atteint que des animaux traités par 2 fois, à J1 et J9 : 4 l'avaient été par le CCNU (1 à faible dose, 3 à forte dose), le cinquième par la forte dose de 5-FU. Cette toxicité semble ainsi être proportionnelle à la dose administrée.

La mortalité pendant la phase de latence, immédiatement après la greffe, ne s'est produite qu'avec C3 (Tableau X). Elle fut précoce (dès 48 heures après la greffe pour la plupart des animaux) et élevée (> 40 % des souris). La morbidité était évidente : animaux déshydratés, prostrés, se déplaçant difficilement et présentant un volumineux flegmon au flanc droit suivi de la sphacélisation du lambeau cutané le recouvrant (de 1 à 2 cm^2, ce qui est considérable pour une souris de 20 g). Cet état de misère physiologique précéda de très peu la mort. Ces animaux trouvés morts ou sacrifiés ne montrèrent macroscopiquement aucune lésion caractéristique autre que la lésion cutanée, ce qui est lié à la rapidité d'installation des troubles observés et à la mortalité précoce.

Mis à part ce dernier type de mortalité, aucune affection particulière n'a frappé les souris maintenues en isolateur. Certaines ont été conservées pendant 7 mois dans la même cage, sans problème.

TABLEAU X

MORTALITE : TAUX ET CAUSES

	LOT C	LOT 1	LOT 2	LOT 3	LOT 4
R4-1	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6
C3-1	2/7 *	2/5 *	1/5 *	0 / 5	0 / 5
C3-2	0 / 6	0 / 6	1/6 *	1/6 ?	1/6 ?
C3-3	10 SUR 41 (48h après la greffe)				
C3-3'	18 SUR 41 (48h après la greffe)				
C3-4	0 / 6	1/6 *	1/6 *	0 / 6	1/6 ?
C3-5	24 SUR 41 (48h après la greffe)				
C3-5'	0 / 6	0 / 5	4/5**	0 / 5	0 / 5
S6-1	0 / 41				
S6-2	0 / 15				

SYMBOLES UTILISES : * = CACHEXIE CANCEREUSE

** = CANNIBALISME

? = CAUSE INCONNUE

MORTALITE : TAUX ET CAUSES (SUITE)

	LOT C	LOT 1	LOT 2	LOT 3	LOT 4
CA10-1	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
CA10-2	0 / 6	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
R10-1	1/5 *	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
R10-2	0 / 8	0 / 6	1/6 ?	0 / 6	1/6 ?
R12-1	0 / 7	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5
TOTAL	3/62	3/54	8/54	1/54	3/54
p.cent	4,84	5,55	14,81	1,85	5,55

D'autre part, aucun vide sanitaire n'a pu être effectué pendant la durée de ce travail. Les conditions de stérilité assurées par les isolateurs, le matériel utilisé (étagères, cages, grilles, litière nourriture, etc) et les techniques de stérilisation employées,sont donc largement suffisantes. Elles permettent d'éviter tout contact des souris Nude avec le milieu extérieur conventionnel, les protégeant ainsi de contaminations exogènes.

Leur maintenance est alors assurée en toute sécurité.

VI - DISCUSSION

La maintenance en isolateurs de souris Nude livrées en conteneurs stériles ne nous a posé aucun problème particulier (cf. Mortalité, Tableau X). Certains animaux ont été conservés pendant 7 mois puis sacrifiés pour examen histologique des greffons (S6-1), sans avoir présenté de troubles quelconques.

La primo-transplantation de cancers humains chez la Nude demande la proximité géographique du bloc opératoire et du Laboratoire où est effectuée la xénogreffe. Ce facteur limitant (233) ne nous a pas concernés et nous avons toujours pu réaliser l'ensemble prélèvement-transport-greffe dans un temps maximum de 3 H 30.

Les cancers recto-coliques humains primitifs requièrent aussi une certaine connaissance de leur aspect macroscopique, pour permettre de distinguer le tissu cancéreux des tissus non cancéreux : c'est l'ignorance de la macroscopie qui nous a fait prélever des fragments non cancéreux de la 1ère tumeur greffée (Rectum), doublée du fait qu'un ulcère végétant n'a de carcinomateux que son bord interne (20).

En outre, une caractéristique importante de ces cancers réside en leur contamination microbienne systématique. Nous n'avons pas pu l'éliminer complètement au cours des passages (pour le cancer C3 surtout), malgré la présence d'antibiotiques dans le milieu servant à la préparation de l'inoculum. Cette contamination peut être une des causes possibles de la mortalité précoce et élevée survenue dans les 48 heures suivant la greffe de C3-3 ET C3-5 : ceci n'est qu'une supposition, car nous n'avons pas effectué d'examens bactériologiques sur les cadavres, en raison de l'autolyse rapide et du cannibalisme fréquent.
Les temps de latence observés entrent dans les normes précédemment décrites (10 à 20 jours) (213), sauf en ce qui concerne S6.1 : des prélèvements de qualité médiocre en sont peut-être la cause. Ainsi que nous l'avons signalé dans le chapitre

"Méthodes", chez certains des animaux qualifiés de "négatifs" lors de la répartition en lots, une croissance exponentielle tardive des nodules tumoraux a pu s'observer, suivie d'une évolution normale. Ces cas traduisent la variabilité du temps de latence de la tumeur. Nous relions cette variabilité à l'hétérogénéité d'un cancer colique ou rectal et surtout à l'hétérogénéité de la répartition des cellules tumorales au sein de l'inoculum, malgré les précautions prises, plutôt qu'à la variabilité de réponse à la xénogreffe de la part d'animaux de mêmes âge, sexe, souche et origine.

Nous avons obtenu un taux de réussite des primo-transplantations comparable à ceux décrits (187, 233) , surtout en ce qui concerne les cancers coliques, et ceci quel que soit l'âge des souris à la greffe. Le succès d'une primo-transplantation peut être lié, en partie du moins, au mode opératoire : les 4 cancers rectaux greffés ont tous fait l'objet d'une amputation abdomino-périnéale. Ce type d'intervention est long, se fait par double abord, et entraîne un temps anoxique plus ou moins élevé du segment intestinal cancéreux. Cet "inconvénient" est évidemment incontournable. C'est ainsi que le rectum où siégeait R4 était froid au toucher, quand nous avons effectué nos prélèvements. Cette anoxie prolongée peut avoir diminué la viabilité des cellules cancéreuses, et par là entraîné la régression spontanée de cette tumeur. Notons que le terme de "régression" est peut-être inexact, car nous n'avons eu aucun moyen de constater la croissance tumorale des greffons. Les "tumeurs" portées par les souris n'étaient vraisemblablement que des abcès.

Au cours des passages, les cancers greffés ont montré la stabilité de leur morphologie, ce qui a été maintes fois décrit (40, 41, 47, 57, 200, 209, 213, 242, 262, 263). Les caractéristiques cinétiques n'ont pu être appréciées que sur C3, le seul à avoir été transplanté 6 fois. Elles se sont stabilisées à partir du 4ème passage.

La chimiosensibilité s'est révélée également stable comme permettait de le prévoir la bibliographie (62, 65, 88, 180, 183, 184, 211, 307, 308). Cependant, contrairement aux indi-

cations de celle—ci, nous avons constaté que, sur 4 cancers ayant fait l'objet de chimiothérapies par le 5-FU ou le CCNU, 2 se sont montrés significativement sensibles, et au CCNU seulement : rappelons que le 5-FU est pourtant réputé être l'agent le plus actif sur ces cancers, et est à ce jour le plus utilisé (11, 23, 24, 25a, 171, 172, 173, 174, 305, 309). Néanmoins, le nombre de cancers greffés est trop faible pour nous permettre de tirer des conclusions définitives.

Nous avons actuellement 2 cancers, C3 et R10, qui répondent aux critères de validation initialement définis : absence de dérive de la morphologie et de la chimiosensibilité principalement, accompagnée d'une stabilisation de la cinétique.
Notons au passage que cette validation, plus établie pour C3 (6 passages) que pour R10 (2 passages), fera quand même l'objet d'une vérification à l'occasion de l'utilisation de ces cancers en screening : en effet, nous comparerons toujours les lots contrôles et traités avec leurs homologues des passages antérieurs.
CA10 et R12 devront être passés en série au moins une fois de plus pour pouvoir, le cas échéant, prétendre à la validation.
S6, pour sa part, montre une croissance trop lente : il est vraisemblable que ce cancer sera finalement abandonné, car son éventuelle utilisation en screening serait beaucoup trop contraignante. En effet, 4 mois s'avèreraient sans doute nécessaires pour évaluer un passage.

Les tests de chimiothérapie sur C3 et R10 sont fiables : ils sont reproductibles, les résultats sont stables, et l'examen microscopique, réalisé de manière systématique dans nos études, confirme l'activité ou l'inactivité des drogues employées. Dans le cadre de leur utilisation en screening, la courbe d'évolution des VTMR pourra donner des informations dès J15 : un rapport T/C % voisin de 100 ou même supérieur, ou à l'inverse inférieur à 30-35 indiquera respectivement une inactivité ou une activité marquées du produit testé sur le cancer considéré. Les résultats définitifs de J30 seront peu différents, et ne feront que renforcer l'indication première de J15 : le test pourra dans ce cas être rendu plus court, intérêt non négligeable.

Par contre, dans les autres cas, 30 jours d'évaluation seront nécessaires pour déterminer une activité ou une inactivité moins marquées.

Enfin, nous avons rencontré 2 inconvénients inhérents aux cancers recto-coliques humains et aux techniques utilisées : d'une part la difficulté de les cultiver in vitro (leur caryotype n'a pu être déterminé), d'autre part, l'impossibilité à ce jour de constituer une "banque froide", pourtant nécessaire.

Les xénogreffes de cancers humains chez la souris Nude sont un des rares modèles permettant d'étudier des cellules malignes humaines in vivo. Il est complémentaire du test in vitro d'inhibition du pouvoir clonogénique (Test de Salmon), dans lequel seule l'inhibition de la capacité de prolifération est évaluée. Mais ce test in vitro utilise des cellules en croissance exponentielle, non forcément représentatives d'une population cancéreuse : en effet, dans une tumeur maligne "solide" (non leucémique), les cellules "dormantes" (cellules en phase G_0 du cycle cellulaire, qui ne se divisent pas au moment de l'observation) représentent près de 90 % de la population cellulaire.

Les xénogreffes chez la Nude sont aussi complémentaires de la batterie de tumeurs malignes murines inoculées à des souches définies de souris (screening primaire du National Cancer Institute). Alors que ce screening murin mesure la capacité d'une drogue à enrayer une maladie cancéreuse murine (greffe à J0, début de traitement à J1), les xénogreffes chez la Nude évaluent in vivo la sensibilité à une drogue donnée d'une population cancéreuse humaine.

Ce test présente une faisabilité correcte, il n'est pas plus long qu'un test du screening murin qui peut durer 60 jours, mais est onéreux : le prix de revient en fin d'expérimentation d'une souris normale et celui d'une souris Nude n'ont rien de comparable. Enfin, les animaux demandent une maintenance les gardant strictement à l'abri de toute contamination extérieure.

Les limites de ce modèle doivent être connues :

- l'extrême rareté des métastases, quel que soit l'âge des souris à la greffe,

- la maladie cancéreuse réduite chez la Nude en cas de greffe par voie sous-cutanée : il s'agit d'une simple privation métabolique, sans phénomène compressif, hémodynamique, hormonal, etc,

- l'échec de transplantation de tumeurs malignes dont certaines parmi les plus graves et les plus fréquentes (tumeurs du système hémolymphopoïétique, cancers du sein, etc) (42, 258, 262).

Par ailleurs, ce modèle ne paraît pas devoir figurer parmi les premiers tests d'activité d'une molécule , en raison de son prix de revient principalement. Il trouvera par contre sa place parmi les modèles du screening secondaire, qui visent à mieux cerner l'activité d'une molécule ayant passé avec succès le cap du screening primaire.

Dans un autre domaine de préoccupations, signalons enfin qu'il peut présenter un intérêt clinique non négligeable et assez rapidement exploitable : on peut avoir une idée de la sensibilité d'un cancer humain à une ou plusieurs drogues par la greffe d'un fragment de biopsie ou d'exérèse chez la Nude.
L'étude de la courbe d'évolution des VTMR peut montrer l'activité ou l'inactivité des drogues choisies dès J15, soit entre la 4ème et la 6ème semaine après la biopsie ou l'exérèse, avec confirmation de ce résultat à J30 (entre la 6ème et la 8ème semaine). Quatre à huit semaines ne semblent pas être un délai trop long, dans le cas où le patient est opéré : les cures éventuelles de chimiothérapie ne commencent pas avant la 4ème semaine suivant l'intervention, pour laisser s'effectuer la cicatrisation.

CONCLUSION

L'objet de ce travail était la mise au point et l'essai de validation d'un modèle expérimental de chimiothérapie anticancéreuse. Ce modèle est constitué par la greffe de cancers humains, coliques ou rectaux,chez des souris Nude, traitées ensuite par des drogues à activité clinique connue. En cas de validation, chaque cancer greffé sur souris est destiné à être intégré dans une batterie de tests d'évaluation de l'activité potentielle de nouvelles molécules (tests de screening).

La mise au point a concerné la maintenance des animaux en isolateurs, les méthodes de transplantations primitives et de passage en série, les méthodes de chimiothérapie, d'évaluation et d'expression des résultats. Elle est actuellement accomplie dans ces domaines, mais reste à effectuer pour la constitution d'une "banque froide" de tumeurs (conservées dans l'azote liquide par exemple).

La validation d'un modèle est l'établissement de la constance et de la reproductibilité de ses caractéristiques. La validation du couple cancer humain/souris Nude a consisté à vérifier 2 types de résultats, déjà obtenus et décrits par de nombreux auteurs. Il s'agit, d'une part, de l'absence de réactions immunitaires de la souris Nude vis à vis des cancers transplantés, donc de l'absence de rejet. D'autre part, de la conservation, au cours des passages, de la morphologie et de la chimiosensibilité des cancers greffés, accompagnée éventuellement d'une accélération de leur croissance pendant les premiers passages.

Sur 7 cancers recto-coliques humains greffés, 5 l'ont été avec succès et furent passés en série par la suite. Les 2 autres (1er cancer greffé et R4) avaient fait l'objet de prélèvements primitifs respectivement non cancéreux (1er) ou vraisemblablement non viables (R4). Nous n'avons donc pas observé de rejet de greffe. Parmi les 5 cancers passés en série, l'un montre une croissance beaucoup trop lente (S6) et sera peut-être abandonné de ce fait. Deux sont en cours de validation (CA10, R12), et deux sont déjà validés (C3, R10) : au cours de leurs transplantations successives (2 à 6), ils ont conservé leur morphologie originelle et la chimiosensibilité observée et quantifiée à leur premier passage. Ces 2 cancers validés sont actuellement utilisés dans le cadre d'un screening.

VU : Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

Professeur P. CABANIE

VU : Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire

Professeur R. LAUTIE

VU : Le Président de la Thèse

Professeur FOURTANIER

VU et PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 26. 3. 1984
Le Président de l'Université Paul Sabatier

Professeur D. BANCEL

B I B L I O G R A P H I E

N.B. : Les références simplement citées, et non lues, sont précédées d'un astérisque.

1 - ADENIS (L.), DUVAL (G.), DEMAILLE (M.C.)
Epidémiologie des Cancers Colo-Rectaux - Lille Med. I979
24, (8), 649-652

2 - ALLISON (A.C.), MONGA (J.N.), HAMMOND (V.)
Increased Susceptibility to virus oncogenesis of congenitally thymus-deprived nude mice
Nature (London) I974, 252, 746-747

3 - AMIEL (J.L.)
Le Cancer
Encyclopedia Universalis, 13, (E.U. France), I980, 871-874

* 4 - ARMINSKI (T.C.), Mc LEAN (D.W.)
Incidence and Distribution of Adenomatous Polyps of the colon and the rectum, based on 1,000 Autopsy Examinations
Dis Colon Rectum, I964, 7, 249-261

5 - AUDIGIER (J.C.), LAMBERT (R.)
Epidemiologie des Cancers du Côlon
Rev. Praticien I979, 29, (13), 1055-1064

* 6 - BACH (J.F.), DARDENNE (M.), PLEAU (J.M.) et al.
Isolation, Biochemical Characteristics and Biological Activity of a Circulating Thymic Hormone in the mouse and in the human; Thymus Factors in Immunity
Ann. N.Y. Acad. Sci. I975, 249, 186-210

7 - BACH (J.F.), LESAVRE (P.)
Immunologie (De la Biologie à la Clinique)
Flammarion Medecine Sciences, I98I, 117-119

8 - BARFKNECHT (T.R.), LITTLE (J.B.)
Abnormal Sensitivity of Skin fibroblasts from familial polyposis patients to DNA alkylating agents
Cancer Res. I982, 2, I249-1254

9 - BASTEN (A.), MILLER (J.F.), SPRENT (J.) et al.
A receptor for Antibody on B Lymphocytes - I : Method for Detection and Functional Significance
J. Exp. Med. I972, 135, 610-626

10 - BEATTIE (G.M.), BAIRD (S.M.), LIPSICK (J.S.) et al.
Induction of T and B Lymphocyte responses in antigenically stimulated athymic mice
Cancer Res. I98I, 41, 2322-2327

11 - BELPOMME (D.)
Cancérologie Générale
(J.B. BAILLIERE - Paris), I979, 320-329

12 - BOGDEN (A.E.), KELTON (D.E.), COBB (W.R.) et al.
A rapid screening method for testing chemotherapeutic agents against human tumor xenografts in "Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice in Cancer Res."
(D.P. HOUCHENS and A.A. OVEJERA Eds) - Gustav Fischer - New-York, Stuttgart, I978, 231-250

13 - BOURNOVILLE (M.), TRIBOULET (J.P.)
Notions Epidémiologiques sur les cancers du colon et du rectum
Lille Méd. I980, 25 (9) - 526-533

14 - BRATTAIN (M.G.), FINE (W.D.), KHALED (F.M.) et al.
Heterogeneity of malignant cells from a human colonic carcinoma
Cancer Res. I98I, 41, (5) 1751-1756

15 - BREIL (P.)
Traitement des Cancers Colo-Rectaux
Pratique Med. I983, 18, 25-29

16 - BURKITT (D.P.)
Epidemiology of the cancer of the colon and rectum
Cancer, I97I, 28, (1), 3-13

17 - BURKITT (D.P.)
Fiber in the etiology of colorectal cancer in "Colorectal Cancer : Prevention, epidemiology and screening"
(Winawer, Schottengeld, Sherlock Eds) New York, I980, 13-18

* 18 - BURT (F.B.), PAVONE-MACALUSO (M.), HORNS (J.W.) et al.
Heterotransplantation of bladder cancer in the hamster cheek pouch : in vivo testing of cancer chemotherapeutic agents
J. Urol. I966, 95, 51-57

19 - BUSSEY (H.J.R.)
Genetic factors in "Recent results in cancer research"
83 (W. Duncan Ed.), Springer Verlag Berlin, Heidelberg, I982, 45-58

20 - CABANNE (F.), BONENFANT (J.L.)
Tumeurs et pseudo tumeurs du colon et du rectum in "Anatomie Pathologique"
Maloine - Paris, Les Presses de l'Université de Laval - Québec)
I980, 819-827

21 - CAMPLEJOHN (R.S.)
Cell Kinetics, in "Recent results in Cancer Research"
83 (W. Duncan Ed.), Springer Verlag Berlin - Heidelberg,
I982, 21-30

22 - CARREL (S.), SORDAT (B.), MERENDA (C.)
Establishment of a cell line (CO-115) from a human colon carcinoma transplanted into nude mice
Cancer Res. I976, 36 (11) 3978-3984

23 - CARTER (S.K.)
Large bowel cancer : The current status of treatment
J. Nat. Cancer Inst. I976, 56, 3-10

24 - CARTER (S.K.), BAKOWSKI (.M.T.), HELLMANN (K.)
Colorectal Adenocarcinoma, in "Chemotherapy of Cancer" (Carter and Bakowski Eds), J.Wiley and Sons - New-York, I977, 116-122

25a- CARTER (S.K.), BAKOWSKI (M.T.), HELLMANN (K.)
Colorectal adenocarcinoma in "Chemotherapy of Cancer" (Carter and Bakowski Eds), J.Wiley and Sons - New-York, 2nd Ed., I98I, 169-174

25b- CARTER (S.K.), BAKOWSKI (M.T.), HELLMANN (K.)
Anticancer Drugs, in "Chemotherapy of Cancer" (Carter and Bakowski Eds) - J.Wiley and Sons - New-York, 2nd Ed. I98I - 101

26 - CHEERS (C.), WALLER (R.)
Activated Macrophages in congenitally athymic "nude" mice and in Lethally irradiated mice
J. Immunol., I975, 115, 844

27 - CLARK (E.A.), RUSSEL (P.H.), EGGHART (M.) et al.
Characteristics and genetic control of NK - cell mediated cytotoxicity activated by naturally acquired infection in the mous-
Int. J. Cancer, I979, 24, 688-699

* 28 - COLE (J.W.), HOLDEN (W.D.)
Post Colectomy regression of adenomatous polyps of the rectum
Arch. Surg. I959, 79, 385-392

29 - CORBETT (T.H.), GRISWOLD (D.P., Jr), ROBERTS (B.J.) et al.
Tumor induction relationship in Development of transplantable cancer of the colon in mice for chemotherapeutic assays, with a note on carcinogen structure
Cancer Res. I975, 35, 2434-2439

30 - CORDIER (A.C.)
Ultrastructure of the thymus in "nude" mice
J. Ultrastructure Res. I974, 47, 26-40

31 - CORDIER (A.C.), HAUMONT (S.M.)
Development of Thymus, parathyroids and ultimobranchial bodies in NMRI and nude mice
Am. J. Anat. I980, 15, 227

32 - CORREA (P.), HAENSZEL (W.)
The Epidemiology of large-bowel cancer
Adv. Cancer Res., I978, 26, 1-141

* 33 - CRISAN (C.)
Z. Anat. Entwickl. Gesch. I935, 104, 327-358

34 - DAAR (A.S.), FABRE (J.W.)
The membrane antigens of human colorectal cancer cells : Demonstration with monoclonal antibodies of heterogeneity within and between tumours and of abnormalous expression of HLA-DR
Eur. J. Cancer Clin. Oncol. I983, 19, (2), 209-220

* 35 - DAVIES (A.J.S.), LEUCHARS (E.), WALLIS (V.) et al.
The failure of thymus-derived cells to produce antibody. Transplantation, I967, 5 - 222-231

36 - DAVY (M.), MOSSIGE (J.), JOHANNESEN (J.V.)
Heterologous growth of human ovarian cancer - A new in vivo testing system
Acta Obstet. Gynecol. Scand. I977, 56, 55

* 37 - DEXTER(DL), SPREMULLI (E.N.), FLIGIEL (Z.) et al.
Heterogeneity of cancer cells from a single human colon carcinoma
Am. J. Med. I98I, 71, (6), 949-956

38 DIPERSIO (L.P.) : Regional growth differences of human tumour xenografts in nude mice
Lab. Anim. I98I, 15 (2), 179-180

* 39 - DOMBAL de (F.T.), WATTS (J.M.), WATKINSON (G.) et al.
Local complications of ulcerative colitis : Stricture, pseudopolyposis and carcinoma of the colon and rectum
Brit. Med. J. I966, 1, 1142-1146

40 - DRAGO (J.R.), MAURER (R.E.), GERSHWIN (M.E.) et al.
The effect of 5-FU and adriamycin on heterotransplants of noble rat prostatic tumors in congenitally athymic nude mice
Cancer I979, 44, (2), 424-430

41 - DRAGO (J.R.), MAURER (R.E.), GOLDMAN (L.B.) et al
Immunobiology and therapeutic manipulation of heterotransplanted Nb rat prostatic adenocarcinoma
Cancer Chemother. Pharmacol. I979, 3, 167-170

42 - DUGA (I. NEULAT, Mme)
Contribution à l'étude des hétérotransplantations de tumeurs humaines à la souris nude
Thèse Med. Toulouse I98I, N° 198

* 43 - DUKES (C.E.)
The classification of the cancer of the rectum
J. Pathol. Bactériol. I932, 35, 323-332

* 44 - DWIGHT (R.W.), HIGGINS (G.A.), KEEHN (R.J.)
Factor influencing survival after resection in cancer of the colon and rectum
Am. J. Surg. I969, 117, 512-522

45 - EARNSHAW (P.), BUSUTTIL (A.), FERGUSON (A.)
Relevance of colonic mucosal inflammation to aetiology, in "Recent results in cancer research" (W. Duncan Ed.)
Springer Verlag Berlin Heidelberg, vol. 83, I982, 31-44

46 - ENSTROM (J.E.)
Colorectal cancer and beer drinking
Brit. J. Cancer I977, 35, 674-683

47 - EPSTEIN (A.L.), HERMAN (M.M.), KIM (H.) et al.
Biology of the human malignant lymphomas.III : Intracrânial heterotransplantation in the nude athymic mouse
Cancer I976, 37, 2158-2176

48 - EPSTEIN (A.L.), KAPLAN (H.S.)
Biology of the human malignant lymphomas - I : Establishment in continuous cell culture and heterotransplantation of diffuse histiocytic lymphomas
Cancer I974, 34, 1851-1872

* 49 - ESBER (H.J.), KELTON (D.E.), BOGDEN (A.E.)
Effects of splenectomy, ALS treatment and tumor growth on serum proteins and immunoglobulin levels in nude athymic mice
Abst. Am. Soc. Microbiol, Annual Meeting, New Orléans
Abst. E-16; I977

50 - FAIVRE (J.), GOUGET (N.), MARTIN (F.) et coll.
Incidence des cancers colo-rectaux dans une population bien définie de 450.000 habitants
Gastro-Entérol. Clin. Biol. I979, 3, (11), 815-820

51 - FALL (D.J.), KUIPER (D.H.), POLLARD (H.M.)
Use of the isotopes in determining occult blood
Cancer I97I, 28 (1) - 135-136

52 - FESTING (M.F.W.), MAY (D.), CONNORS (T.A.) et al.
An athymic mutation in the rat
Nature I978, 274, 365-366

53 - FIDLER (I.J.), HART (I.R.)
The origin of metastatic heterogeneity in tumors
Eur. J. Cancer I98I, 17, 487-494

54 - FIDLER (I.J.), KRIPKE (M.L.)
Metastasis results from preexisting variant cells within a malignant tumor
Science I977, 197, 893-895

* 55 - FIEBIG (H.H.), LOEHR (G.W.)
Growth of human colorectal carcinoma in nude mice and early results of chemotherapy, in : Thymusaplastic nude mice and rats clinical oncology
Proc. Symp. I979, 317-322

* 56 - FLANAGAN (S.P.)
"Nude", a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse
Genet. Res. (Camb.) I966, 8, 295-309

57 - FOGH (J.), FOGH (J.M.), ORFEO (T.)
One hundred and twenty seven cultured human tumor cell lines producing tumors in nude mice
J. Natl. Cancer Inst. I977, 59, 221-226

58 - FOGH (J.), ORFEO (T.), TISO (J.) et al
Establishment of human colon carcinoma lines in nude mice
Exp. Cell. Biol. I979, 47 (2) 136-144

59 - FOGH (J.), TISO (J.), ORFEO (T.) et al.
Thirty four lines of six human tumor categories established in nude mice
J. Natl. Cancer Inst. I980, 64, 745-751

60 - FRASER (P.), ADELSTEIN (A.M.)
Recent trends, in "Recent results in cancer research", vol. 83, (W; duncan Ed.), Springer Verlag Berlin Heidelberg, I982, 1-10

61 - FREUDENTHAL (R.I.), LEBER (A.P.)
Comparison of the drug metabolizing enzymes in the liver and the kidney from homozygous nude swiss, heterozygous normal swiss, homozygous normal swiss and DBA2 mice
Research Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. I976, 15, (2) 267-278

62 - FUJITA (M.), HAYATA (S.), TAGUCHI (T.)
Relationship of chemotherapy on human cancer xenografts in nude mic to clinical response in donor patient
J. Surg. Oncology I980, 15, 211-219

63 - GILLIS (S.T.), UNION (N.A.), BAKER (P.E.) et al.
The in vitro generation and sustained culture of nude mouse cytolytic T lymphocytes
J. Exp. Med.? I979, 149, (6), 1460-1476

64 - GIOVANELLA (B.C.), STEHLIN (J.S.)
Heterotransplantation of human malignant tumors in "nude" thymusless mice - I : Breeding and Maintenance of "nude" mice
J. Natl. Cancer Inst. I973, 51, 615-619

65 - GIOVANELLA (B.C.), STEHLIN (J.S.), FOGH (J.)
Serial transplantation of human malignant tumors in nude mice and their use in experimental chemotherapy in "Proc. Symp. Use Athymic (nude) mice cancer Res"
(Houchens and Ovejera Eds) Gustav Fischer New-York Stuttgart, I978, 163-179.

66 - GIOVANELLA (B.C.), STEHLIN (J.S.), WILLIAMS (L.J.)
Development of invasive tumors in the "nude" mouse after injection of cultured human melanoma cells
J. Natl. Cancer Inst. I972, 48, 1531-1533

67 - GIOVANELLA (B.C.), YIM (S.O.), MORGAN (A.C.) et al.
Brief communication : Metastases of human melanomas transplanted in "nude" mice
J. Natl. Cancer Inst. I973, 50, 1051-1053

68 - GIULIANI (F.C.), ZIRVI (K.A.), KAPLAN (N.O.) et al.
Chemotherapy of human colorectal tumor xenografts in athymic mice with clinically active drugs : 5 FU and BCNU - Comparison with Doxorubicin Derivatives 4' Deoxydorubicin an 4'O - methyldoxorubicin
Int. J. Cancer I98I, 27, (1), 5-13

69 - GNAUCK (R.)
Dickdarm karzinoma screening mit haemoccult
Leber Magen. Darm. I977, 7, 32-35

* 70 - GOLDENBERG (D.M.), BHAN (R.D.), PARIA (R.A.)
In vivo human hamster somatic cell fusion indicated by glucose 6-P dehydrogenase and lactate-dehydrogenase profiles
Cancer Res. I97I, 31, 1148-1152

* 71 - GOLDENBERG (D.M.), WITTE (S.)
Chemotherapy of two morphologically similar human tumors growing in the cheek pouch of the golden hamster
Europ. J. Cancer I967, 3, 95-101

72 - GOLDIN (A.), WOLPERT-DEFILIPPES (M.K.)
Nude mouse models as predictors of chemotherapy in man : thymidines and pyrimidines
Bull Cancer (Paris) I979, 66, (1), 61-66

73 - GOLDIN (A.)
Comm. pers. I983

74 - GOLDSTEIN (A.L.), GUHA (A.), ZATZ (M.M.) et al.
Purification and biological activity of thymosin, a hormone of the thymus gland
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. I972, 69, 1.800-1.803

* 75 - GOLDSTEIN (A.L.), WHITE (A.)
Thymosin and other thymic hormones - Their nature and roles in the thymic dependancy of immunological phenomena in "Contemp. Top. Immunobiol" (Cooper and Warner Eds)
Plenum Press. New-York, vol. 2, I973, 339-350

76 - GOLDSTEIN (G.)
The isolation of thymopoiedin (thymin)
Ann. N.Y. Acad. Sci. I975, 249, 177-185

* 77 - GREENE (H.S.)
The significance of the heterologous transplantability of human cancer
Cancer I952, 5, 24-44

* 78 - GREENE (H.S.)
The transplantation of human brain tumors to the brains of Laboratory animals
Cancer Res. I953, 13, 422-426

* 79 - Guide for the care and use of the nude (thymus-deficient) mouse in biomedical research. Committee on care and use of the nude mouse (Gullino, P.M., Chairman)
ILAR News, I976, 19, M-1-M-20

80 - HAENSZEL (W.), CORREA (P.)
Cancer of the colon and rectum and adenomatous polyps
Cancer I97I, 28 (1), 14-24

81 - HALE (M.L.), HANNA (E.E.), HANSEN (C.T.)
Nude mice for homozygous nude parents show smaller PFC responses to sheep erythrocytes than nude mice from heterozygous mothers
Nature, I976, 260, 44-45

82 - HANNA (N.)
Expression of metastatic potential of tumor cells in young nude mice is correlated with low levels of natural killer cell mediated cytotoxicity
Int. J. Cancer I980, 26, 675-680

83 - HANNA (N.)
Role of natural killer cells in control of cancer metastasis
Cancer Metastasis Rev. I982, 1, 45-64

84 - HANNA (N.), DAVIS (T.W.), FIDLER (I.J.)
Environmental and genetic factors determine the level of NK activity of nude mice and affect their scutability as models for experimental metastasis
Inf. J. Cancer, I982, 30, 371-376

85 - HANSEN (C.T.)
The nude gene in animal models for oncologic research in "Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice in Cancer Research" (D.P. Houchens and A.A. Ovejera Eds)
Gustav Fischer Verlag New-York, I978, 11-20

* 86 - HELMS (R.A.), BULL (D.A.)
Natural killer activity of human lymphocytes against colon cancer cells
Gastroentérol. I980, 78, 738-744

87 - HELSON (L.)
The Nude Model, in "Cancer Chemotherapy" vol. 1 (S.T. Crooke and Prestayko J. Eds)
Academic Press New-York, I980, 229-245

88 - HELSON (L.), DAS (S.K.), HADJU (S.I.)
Human neuroblastoma in "nude" mice
Cancer Res. I975, 35, 2594-2599

89 - HELSON (L.), HELSON (C.) DAS (S.K.) et al.
The use of athymic nude mice in cancer research (D.P.Houchens and A.A. Ovejera Eds) Fischer Jena I978, 257-266

90 - HENDERSON (B.E.)
Descriptive epidemiology and geographic pathology, in "Cancer, Achievements, Challenges and Prospects for the I980S" vol. 1 (Burchenal J.H. and Oettgen HF Eds)Grune and Stratton, I98I, 51-69

91 - HEPPNER (G.H.), DEXTER (D.L.), DE NUCCI (T.) et al.
Heterogeneity in drug sensitivity among tumor cell sub-populations of a single mammary tumor
Cancer Res. I978, 38, 3758-3763

92 - HERBERMAN (R.B.), DIEU (J.), KAY (H.D.)
Natural killer cells : Characteristics and regulation of activity
Immunol. Rev. I979, 44, 43-70

93 - HERBERMAN (R.B.), HOLDEN (H.T.)
Natural cell-mediated immunity
Adv. Cancer Res. I978, 27, 305-377

94 - HERBERMAN (R.B.), NUNN (M.E.), LAURIN (D.H.)
Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoïd cells against syngenic and allogenic tumors I : Distribution of reactivity and specificity.
Int. J. Cancer I975, 16, 216-229

95 - HERLYN (D.M.), STEPLEWSKI (Z.), HERZYN (M.F.) et al.
Inhibition of growth of colorectal carcinoma in nude mice by monoclonal antibody
Cancer Res. I980, 40, (3), 717-721

* 96 - HIGGINSON (J.)
Importance of environmental factors in cancer
INSERM Symposia Server I976, 52, 15-23

* 97 - HILL (M.J.)
The effect of some factors on the fecal concentration of acid steroids, neutral steroid and urobilins
J. Pathol. I97I, 104, 239-245

98 - HIROHASHI (S.), SHIMOSATO (Y.), KAMEYA (T) et al.
Morphological and functional aspects of human liver cells carcinomas transplanted in nude mice
"Proc. Int. Workshop Nude Mice", 2, (T. Tomura, N. Ohsawa, N. Tamaoki, K. Fujiwara Eds) - Gustav Fischer Verlag Stuttgart I977, 427-434

99 - HOLDEN (H.T.), HERBERMAN (R.B.), SANTONI (A.) et al.
Natural cell-mediated cytotoxicity in nude mice
Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice Cancer Res" (D.P. Houchens and A.A. Ovejera Eds) - Gustav Fischer New-York Stuttgart I978, 81-92

100 - HOLUB (M.), ROSSMANN (P.), MANDI (B.)
Dysgenetic thymic complex of the nude mouse
Folia Biol. (Prague) I978, 24, 416

101 - HORN (R.C., Jr)
Malignant potential of polypoïd lesions of the colon and rectum
Cancer I97I, 28, (1), 146-152

102 - HOUCHENS (D.P.), MARKS (T.)
Toxicity of cancer chemotherapeutic agents in athymic (nude) mice
Cancer Treat. Rep. I977, 61, (1), 103-104

103 - HOUCHENS (D.P.), OVEJERA (A.A.)
The therapy of human tumors in athymic (nude) mice
Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice Cancer Res. (D.P. Houchens and A.A. Ovejera Eds) - Gustav Fischer New-York I978, 267-280

104 - HOUGHTON (J.A.), HOUGHTON (P.J.)
On the mechanism of cytotoxicity of fluorinated pyrimidines in four human colon adenocarcinoma xenografts maintened in immune-deprived mice
Cancer I980, 45, 1159-1167

105 - HOUGHTON (J.A.), TAYLOR (D.M.)
Growth characteristics of human colorectal tumours during serial passages in immune deprived mice
Br. J. Cancer I978, 37, 213-223

106 - HOUGHTON (P.J.), HOUGHTON (J.A.)
Evaluation of single agent therapy in human colorectal tumour xenografts
Br J. Cancer I978, 37, 838-840

107 - IKE HARA (S.), HAMASHIMA (Y.), MASUDA (T.)
Immunological restoration of both thymectomized and athymic nude mice by a thymus factor
Nature I975, 258, 335-337

* 108 - ISAACSON (J.H.), CATTANACH (B.M.)
Report, Mouse News Letter I962, 27, 31

109 - JOHNSON (R.K.), GOLDIN (A.)
The clinical impact of screening and other experimental tumor studies
Cancer Treat. Rev. I975, 2, 1-31

110 - JORDAN (A.K.), OWEN (J.J.T.), RAFF (M.C.)
Organ culture studies of nude mouse thymus
Eur. J. Immunol. I977, 7, (10), 736-743

111 - JOSWIAK (W.), KOSCIELAK (J.)
Lactosylsphingosine reactive antibody and CEA in patients with colorectal cancer
Eur. J. Clin. Oncol. I982, 18, (7), 617-621

112 - KEATHLEY (J.D.), NEEDHAM (C.A.)
Analysis of the fecal microflora and its enzymatic activity in individuals genetically predisposed to colon cancer
Cancer Res. I982, 42, 4284-4288

113 - KERBEL (R.S.)
Implications of immunological heterogeneity of tumours
Nature, I979, 280, 358-359

114 - KIESSLING (R.), KLEIN (E.), PROSS (H.) et al
Natural killer cells in the mouse I and II
Eur. J. Immunol. I975, 5, 112-116 and 117-121

115 - KINDRED (B)
Functionnal activity of T cells wich differentiate from nude mouse precursors in a congenic or allogeneïc thymus graft
Immunol. Rev. I978, 42, 50

116 - KINDRED (B.), LOOR (F.)
Activity of host derived T cells wich differentiate in nude mice grafted with coisogenic or allogeneïc thymuses
J. Exp. Med. I974, 139, 1215-1227

* 117 - KINDRED (B), LOOR (F.)
The development of host type θ and TL antigens in nude mice after transplantation of a neonatal thymus
Am. Zool. I975, 15, 175-179

118 - KINLEN (L.J.)
Aetiology in "Recent results in Cancer Research", vol. 83
(W. Duncan Ed.) - Springer Verlag Berlin Heidelberg I982, 11-20

119 - KLEIN (J.J.), GOLDSTEIN (A.L.), WHITE (A.)
Effects of the thymus lymphocytopoïetic factor
Ann. N.Y. Acad. Sci. I966, 135, 485-495

120 - KOCH (M.), WASHER (G.), GAEDKE (H.) et al.
Carcinoembryonic Antigen : Usefulness as a postsurgical method in the detection of recurrence in Dukes'stages B2 and C colorectal cancers
J. Natl. Cancer Inst. I982, 69 (4), 813-815

121 - KOENE (R.), GERLAG (R.), JANSEN (J.)
Rejects of skin grafts in the nude mouse
Nature, I974, 251, 69-70

122 - KOHN (K.W.)
Inderstrand cross-linking of DNA by 1,3 Bis (2-chloroethyl)-1-Nitrosourea and other 1-(2-haloethyl)-1-Nitrosureas
Cancer Res. I977, 37, 1450-1454

123 - KOHN (K.W.), ERICKSON (L.C.), LAURENT (G.)
DNA alkylation, cross-linking and repair, in"Nitrosoureas in Cancer Treatment", INSERM Symposium N° 19, (B. SERROU, P. SCHEIN, J.L. IMBACH Eds)
Elsevier North Holland Biomedical Press I98I, 33-48

* 124 - KOMURO (K.), BOYSE (E.A.)
Induction of T lymphocytes from precursors cells in vitro by a product of the thymus
J. Exp. Med. I973, 138, 479-482

125 - KOPELOVICH (L.)
The use of a tumor promoter as a single parameter approach for the detection of individuals genetically predisposed to colorectal cancer
Cancer Letter I98I, 12, 67-74

* 126 - KRAMER (M.H.), GERSHWIN (M.E.)
Immune competency of nude mice bred from homozygous and heterozygous mothers
Transplant I976, 22, 539-544

127 - KUBOTA (T.), SHIMOSATO (Y.), NAGAI (K.)
Experimental chemotherapy of carcinoma of the human stomach and colon serially transplanted in nude mice
Gan. I978, 69, (3) 299-309

128 - KUHARA (T.), FUJIWARA (M.), SUDO (K.) et al.
Immunological properties of athymic nude mice born from homozygous (nu/nu) parents
Lab. Animals I980, 14, (2), 167-172

129 - KYRIAZIS (A.), DIPERSIO (L.), MICHAEL (J.G.) et al.
Influence of the mouse hepatitis virus (M.H.V.) infection on the growth of human tumors in the athymic mouse
Int. J. Cancer I979, 23, 402-409

130 - KYRIAZIS (A.), KYRIAZIS (A.P.)
Preferential siter of growth of human tumors in nude mice following subcutaneous transplantation
Cancer Res. I980, 40, 4.509-4511

* 131 - LAMELIN (J.P.), LISOWSKA-BERNSTEIN (B.), MATTER (A.) et al.
Mouse thymus independant and thymus derived lymphoid cells : immunofluorescent and functional studies
J. Exp. Med. I972, 136, 984-1007

* 132 - LAURENCE (D.J.R.), STEVENS (U.), BETTELHEIM (R.) et al.
Role of plasma CEA in diagnosis of gastrointestinal, mammary and bronchial carcinoma
Brit. Med. J. I972, 3, 605-609

133 - LAWLEY (P.D.)
Effect of some chemical mutagens and carcinogens on nucleic acids
Progress in Nucleic Ac. Res. I966, 5, 89-131

134 - LEFKOVITS (I.)
The regulation of antibody synthesis in nude mice in "Proc. Symp. Use Athymic Nude mice"
Cancer Res. (D.P. HOUCHENS and A.A. OVEJERA Eds), Gustav Fischer New-York Stuttgart I978, 55-62

135 - LEIBOVITZ (A.), STINSON (J.C.), Mc COMBS (W.B.) et al.
Classification of human colorectal adenocarcinoma cell lines
Cancer Res. I976, 36, 4562-4569

136 - LEON (S.A.), SHAPIRO (B.), SKLAROFF (D.M.) et al.
Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy
Cancer Res. I977, 37, 646-650

137 - LEV (R.), GROVER (R.)
Precursors of human colon carcinoma, a serial section study of colectomy specimens
Cancer I98I, 47, (8), 2007-2015

138 - LI (F.P.)
Clinical features and management of genetic cancers in "Cancer, achievements, challenges and prospects for the I980 S" vol. 1 (J.H. BURCHENAL and F.OETTGEN Eds) - GRUNE and STRATON I98I, 423-429

139 - LIEB (L.M.), LISCO (H.)
In vitro uptake of tritiated thymidine by carcinoma of the human colon
Cancer Res. I966, 26, (1), 733-740

140 - LIPKIN (M.)
Proliferation and differentiation of normal and neoplasic cells in the colon of man
Cancer I97I, 28, (1), 38-40

141 - LIPSICK (J.S.), KAPLAN (N.D.)
Interleukine 2 is mitogenic for nu/nu and nu/+ murine spleen cells
Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. I98I, 78 (4) 2398-2402

* 142 - LOCKHART-MUMMERY (J.P.), DUKES (C.E.)
Familial adenomatosis of colon and rectum : its relation to cancer
Lancet 1936, 1, 586-589

* 143 - LOGERFO (P.), HERTER (F.P.), BENNETT (S.J.)
Absence of circulating antibodies to carcino-embryonic antigen in patients with gastrointestinal malignancies
Int. J. Cancer I972, 9, 344-348

144 - LOOR (F.), AMSTUTZ (H.), HAGG (L.B.) et al.
T. Lineage lymphocytes in nude mice born from homozygous nu/nu parents
Eur. J. Immunol. I976, 6, 663-665

145 - LOOR (F.), HAGG (L.B.)
The restoration of the T lymphoïd system of nude mice - Lower efficiency of non-lymphoïd, epithelial thymus grafts
Cell Immunol. I977, 29, 200-209

146 - LOOR (F.), HAGG (L.B.), MAYOR (K.S.) et al.
θ-positive cells in nude mice born from homozygous nu/nu mothers
Nature I975, 255, 657-658

147 - LOOR (F.) KINBRED (B.)
Differenciation of T-cell precursors in nude mice demonstrated by Immunofluorescence of T-cell membrane markers
J. Exp. Med. I973, 138, I044-I055

148 - LOOR (F.), KINBRED (B.)
Immunofluorescence study of T-cell differenciation in allogeneic thymus grafted nude, in "Proc. 1st Int. Workshop nude mice (J. Rygaard and C.O. Povlsen Eds) - Gustav Fischer Verlag Stuttgart, I974, 141-147

149 - LOOR (F.), ROELANTS (G.E.)
High frequency of T-lineage lymphocytes in nude mouse spleen
Nature, I974, 251, 229-230

150 - LUZZATI (A.L.), JACOBSON (E.B.)
Serum immunoglobulin levels in nude mice
Eur. J. Immunol. I972, 2, 473-474

151 - MACH (J.P.), CARREL (S.), MERENDA (C.) et al.
In vivo localization of radiolabelled antibodies to carcino-embryonic antigen in human colon carcinoma grafted into nude mice
Nature, I974, 248, 704-706

152 - MAFFIOLI (C.)
Examens paracliniques
Cahiers Intégrés de Médecine : Gastroentérol. 15, I97I, 28, 63-65

* 153 - MANDEL (T.)
Ultrastructure of epithelial cells in the medulla of the guinea pig thymus
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci, I968, 46, 755-767

* 154 - MANDEL (T.)
Epithelial cells and lymphopoiesis in the cortex of guinea pig thymus
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. I969, 47, 153-155

155 - MANDEL (T.), RUSSEL (P.J.), BYRD (W.)
Cell interactions, in "Proc. 3nd Lepetit Colloquium
(L.G. Silvestri Ed.) North Holland Amsterdam I972, 183-191

156 - MANNING (D.D.), REED (N.D.), SHAFFER (C.F.)
Maintenance of skin xenografts of widely divergent phylogenetic origin on congenitally athymic (nude) mice
J. Exp. Med. I973, 138, 448-494

157 - MARTIN (D.S.), STOLFI (R.L.), SAWYER (R.C.) et al.
High-dose 5-FU with delayed uridines rescue in mice
Cancer Res. I982, 42, (10), 3964-3970

* 158 - MARTIN (F.), MARTIN (M.S.)
Demonstration of antigens related to colonic cancer in the human digestive system
Int. J. Cancer I970, 6, 352-360

159 - MAYO (J.G.)
Various systems for rearing nude mice and utilizing them in the laboratory, in "Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice Cancer Res. (D.P. HOUCHENS and A.A. OVEJERA Eds) - Gustav Fischer New-York Stuttgart, I978, 23-25

160 - MELLIERE (D.)
Polypes et polypose recto-colique
Cahiers Intégrés de Médecine, I97I, 31, 126-132

161 - MERENDA (C.), SORDAT (B.), MACH (J.P.) et al.
Human endometrial carcinomas serially transplanted in nude mice and established in continuous cell lines
Int. J. Cancer I975, 16, 559-570

162 - MILLER (A.B.)
Lifestyle factors in human cancer, in "Cancer, Achievements, Challenges and Prospects for the I980s" vol. 1 (J.H. BURCHENAL and H.F. OETTGEN Eds) - Grune and Stratton I98I, 73-74

163 - MILLER (H.C.), SCHMIEGE (S.K.), RULE (A.)
Production of functionnal T. cells after treatment of bone marrow with thymic factor
J. Immunol. I973, 111, I005-I009

* 164 - MILLER (J.F.A.P.), BASTEN (A.), SPRINT (J.) et al.
Interactions between lymphocytes in immune responses
Cell. Immunol. I97I, 2, 469-495

* 165 - MILLER (J.F.A.P.), OSOBA (D.)
Current concepts of the immunological functions of the thymus
Physiol. Rev. I967, 47, 437-478

* 166 - MING-CHAI (C.)
Pathogenesis of carcinoma of the colon and rectum in Schistosomiasis japonica
Clin. Med. J. I965, 84, 513-525

* 167 - MITCHELL (J.), PYE (J.), HOLMES (M.C.)
Antigens in immunity - Antigen localization in congenitally athymic nude mice
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. I972, 50, 637-650

168 - MIYAKI (M.), AKAMATSU (N.), ONO (T.) et al.
Morphologic transformation and chromosomal changes induced by chemical carcinogens in skin fibroblasts from patients with familial adenomatous coli
J. Batl. Cancer Inst. I982, 68, (4), 563-571

169 - MODAN (B.), BARREL (V.), LUBIN (F.) et al.
Low fiber intake as an etiologic factor in cancer of the colon
J. Natl. Cancer Inst. I975, 55, 15-18

170 - MOERTEL (C.G.)
Therapy of a advanced gastro-intestinal cancer with the nitro-soureas
Cancer Chemoth. Rep. I973, 4, 27-34

171 - MOERTEL (C.G.)
Clinical management of advanced gastro-intestinal cancer
Cancer, I975, 36, 675-682

172 - MOERTEL (C.G.)
Chemotherapy of gastro-intestinal cancer
Clin. Gastro-Enterol., I976, 5, 777-793

173 - MOERTEL(C.G.)
Chemotherapy of gastro-intestinal cancer
N. Engl. J. Med. I978, 299, 1049-1052

174 - MOERTEL (C.G.), O'CONNELL (M.J.), RITTS (R.E.) et al.
A controlled evaluation of combined immunotherapy (MER-BCG) and chemotherapy for advanced colorectal cancer in "Immunotherapy of cancer : Present status of trials in man" (TERRY W.D., D. WINDHORST Eds) I978, 573-586

175 - MOREAUX (J.)
Traitement chirurgical et pronostic des cancers du côlon gauche
Rev. Praticien I979, 29 (13), 1119-1131

176 - MORSON (B.C.)
The polyp-cancer sequence in the large bowel
Proc. R. Soc. Med. I974, 67, 451-457

* 177 - MOSIER (D.E.), PIERCE (C.W.)
Functional maturation of thymic lymphocyte populations in vitro
J. Exp. Med. I972, 136, 1484-1500

178 - MUTO (T.), BUSSEY (J.R.), MORSON (B.C.)
The evolution of cancer of the colon and the rectum
Cancer I975, 36, (6), 2251-2270

179 - NICHOLLS (R.J.)
Surgery, in "Recent Results in Cancer Research", vol. 83, (W. Duncan Ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, I982, 101-112

180 - NOWAK (K.), PECKHAM (M.J.), STEEL (C.G.)
Variation in response of xenografts of colorectal carcinoma to chemotherapy
Br. J. Cancer, I978, 37, (4), 576-584

181 - OFFICE OF POPULATIONS CENSUSES AND SURVEYS
Occupational Mortality I970-I972, HMSO London, séries DS N° 1

182 - OSIEKA (R.), HOUCHENS (D.P.), GOLDIN(A.) et al.
Chemotherapy of human cancer colon xenografts in athymic nude mice
Cancer I977, 40, 2640-2650

183 - OSIEKA (R.) JOHNSON (R.K.)
Evaluation of chemical agents in phase I clinical trial and earlier stages of development against xenografts of human colon carcinoma, in "Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice Cancer Res." (D.P. HOUCHENS and A.A. OVEJERA Eds), Gustav Fischer New-York, I978, 217-223

184 - OSIEKA (R.), THOMAS (C.B., Jr)
Human colon cancer xenografts in nude mice as models for experimental chemotherapy, in "Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice Cancer Res" (D.P. HOUCHENS and A.A. OVEJERA Eds), Gustav Fischer New-York, I978, 225-226

* 185 - OUGHTON (S.M.J.), OWEN (L.N.)
Transplantation of dog neoplasms into the mouse mutant nude
Res. Vet. Sci. I974, 17, 414-416

186 - OUTZEN (H.C.), CUSTER (R.P.), EATON (G.J.) et al.
Spontaneous and induced tumor incidence in germ-free"nude" mice
J. Reticuloendothel. Soc. I975, 17, 1-9

187 - OVEJERA (A.A.), HOUCHENS (D.P.)
Human tumor xenografts in athymic nude mice as a preclinical screen for anticancer agents
Semin. Oncol. I98I, 8, (4), 386-393

188 - OVEJERA (A.A.), HOUCHENS (D.P.), BARKER (A.D.)
Sensivity of a human tumor xenograft in nude (athymic) mice to various clinically active drugs, in "Proc. 2nd Int. Workshop Nude Mice" (NOMURA Ed.) Tokyo, University of Tokyo Press, and Stuggart - Gustave Fischer Verlag, 1977, 451-460

189 - OVEJERA (A.A.), HOUCHENS (D.P.), BARKER (A.D.)
Chemotherapy of human tumor xenografts in genetically athymic mice
Ann. Clin. Lab. Sci. I978, 8, (1), 50-56

190 - OVEJERA (A.A.), TIMM (F.M.), HOUCHENS (D.P.) et al.
Nude mouse facility designed for large scale drug evaluation and other cancer research activities, in "Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice Cancer Res." (D.P. HOUCHENS and A.A. OVEJERA Eds) - Gustav Fischer Verlag N.Y. Stuttgart I978, 39-48

* 191 - OWEN (J.J.), JORDAN (R.K.), RAFF (M.C.)
Eur. J. Immunol. I975, 5, 653-656

192 - PAINTER (R.B.), YOUNG (B.R.)
Repair replication in mammalian cells after X-irradiation
Mutation Res. I972, 14, 225-235

193 - PANTELOURIS (E.M.)
Absence of thymus in a mouse mutant
Nature (London) I968, 217, 370-371

194 - PANTELOURIS (E.M.)
Observation of the immunobiology of "nude" mice
Immunol. I97I, 20, 247-252

195 - PANTELOURIS (E.M.)
Athymic Development in the mouse
Differenciation I973, 1, (6), 437-450

196 - PANTELOURIS (E.M.), FLISCH (P.A.)
Responses of athymic (nude) mice to sheep red blood cells
Eur. J. Immunol. I972, 2, 236-239

197 - PANTELOURIS (E.M.), HAIR (J.)
Thymus dysgenesis in nude (nu/nu) mice
J. Embryol. Exp. Morphol. I970, 24, 615-623

198 - PETERSEN (S.E.), BICHEL (P.), LORENTZEN (M.)
Flow cytometric demonstration of tumour-cell subpopulations with different DNA content in human colorectal carcinoma
Eur. J. Cancer, I978, 15, 383-386

199 - PETREK (J.A.), MINTON (J.P.)
Treatment of hepatic metastases by percutaneous hepatic arterial infusion
Cancer I979, 43, (6), 2182-2188

200 - PICKARD (R.G.), COBB (L.M.), STEEL (G.G.)
Growth kinetics of xenografts of human colorectal tumours in immune deprived mice
Br. J. Cancer I975, 31, 36-45

201 - PIERPAOLI (W.), BESEDOVSKY (H.O.)
Role of the thymus in programming of neuroendocrine functions
Clin.Exp. Immunol. I975, 20, 323-328

202 - PIGUET (P.F.), VASALLI (P.)
Rejection of allo or xenografts or lymphoïd cells by nude mice T-cell suicide as a result between histoincompatible T and B cel
J. Immunol. I978, 120 (1), 79-85

203 - PIMM (M.V.), BALDWIN (R.W.)
B C G immunotherapy of rat tumors in athymic nude mice
Nature (London) I975, 254, 77

204 - PIMM (P.V.), BALDWIN (R.W.)
B C G treatment of human tumour xenografts in athymic nude mice
Br J. Cancer, I978, 38, 699

205 - POLLARD (H.M.)
Opening the National Conference on Cancer of the Colon and Rectum
Cancer I97I, 28, (1), 1

206 - POTET (F.)
Anatomie Pathologique
Cahiers Intégrés de Médecine I97I, 27, 40-50

207 - POTET (F.)
Lésions coliques précancéreuses
Rev. Praticien I979, 29, (13) 1067-1073

208 - POVLSEN (C.O.)
Growth of human tumors in nude mice and chemotherapy studies in this model, in "Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice Cancer Res." (D.P. HOUCHENS and A.A. OVEJERA Eds), Gustav Fischer N.Y. Stuttgart, I978, 187-194

209 - POVLSEN (C.O.)
Heterotransplants of human tumors in nude mice, in "Antibiotics Chemotherapy", vol. 28, Karger Basel, I980, 15-20

* 210 - POVLSEN (C.O.), FIALKOW (P.J.), KLEIN (E.) et al.
Growth and antigenic properties of a biopsy-derived Burkitt's lymphoma in thymus-less (nude) mice
Int. J. Cancer, I973, 11, 30-39

211 - POVLSEN (C.O.), JACOBSEN (G.K.)
Chemotherapy of a human malignant melanoma transplanted in the nude mouse
Cancer Res. I975, 35, 2790-2796

212 - POVLSEN (C.O.), JACOBSEN (G.K.), RYGAARD (J.)
The mouse mutant nude as a model for testing of anticancer agents, in"The Laboratory Animal in Drug Testing"(A. SPIEGEL Ed.)
Gustav Fischer Verlag I973, 63-72

213 - POVLSEN (C.O.), RYGAARD (J.)
Heterotransplantation of human adenocarcinomas of the colon and the rectum to the mouse mutant "nude"
Astudy of nine consecutive transplantations
Acta Pathol. Microbiol. Scand, sect. A, I97I, 79, 159-169

214 - POVLSEN (C.O.), RYGAARD (J.), FOGH (J.)
Long term growth of human tumors in nude mice : evaluation of stability, in "The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research", vol. 2, (J. FOGH and B.C. GIOVANELLA Eds) - Academic Press N.Y. I982, 79-93

215 - POVLSEN (C.O.), SHAKKEBACK (N.E.), RYGAARD (J.) et al.
Heterotransplantation of human foetal organs to the mouse mutant nude
Nature, I975, 248, 247-249

* 216 - POVLSEN (C.O.), SORDAT (B.), TAMAOKI (N.) (Eds)
Human tumors senally transplanted in nude mice
Report Copenhagen : The Nude Mouse Secretariat I977

* 217 - POVLSEN (C.O.), VISFELDT (J.), RYGAARD (J.) et al.
Growth patterns and chromosome constitution of human malignant tumours after long-term serial transplantations in nude mice
Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. A, I975, 83, 709-716

* 218 - PREHN (R.T.)
Analysis of antigenic heterogeneity within individual 3-methylcholanthrene induced mouse sarcomas
J. Natl. Cancer Inst. I970, 45, 1039-1045

219 - PRETLOW (T.P.), KEITH (E.F.), CRYAR (A.K.) et al.
Eosinophilic infiltration of human colonic carcinomas as a prognostic indicator
Cancer Res. I983, 43, 2997-3000

* 220 - PRITCHARD (H.), MICKLEM (H.S.)
Immune responses in congenitally thymus-less mice, I : Absence of response to oxazolone
Clin. Exp. Immunol. I972, 10, 151-161

221 - PRITCHARD (H.), MICKLEM (H.S.)
Haemopoïetic stem cells and progenitors of functional T lymphocytes in the bone marrow of "nude" mice
Clin. Exp. Immunol. I973, 14, 597-607

* 222 - PUSZTASZERI (G.), MACH (J.P.)
Carcinoembryonic antigen (CEA) in non digestive cancerous and normal tissues
Immunochemistry I973, 10, 197-204

223 - LE QUINTREC (Y.)
Avant-propos sur les cancers des côlons
Rev. Praticien I979, 29 (13) 1051-1052

224 - RAFF (M.C.)
Surface antigenic markers for distinguishing T and B lymphocytes in mice
Transplant. Rev. I97I, 6, 52-80

225 - RAFF (M.C.)
Theta-bearing lymphocytes in nude mice
Nature (London) I973, 246, 350-351

* 226 RAFF (M.C.), OWEN (J.J.T.)
Eur. J. Immunol. I97I, 1, 27-30

* 227 - RAFF (M.C.), WORTIS (H.H.)
Thymus dependence of theta-bearing cells in the peripheral lymphoïd tissues of mice
Immunol. I970, 18, 931-942

228 - RAMSEIER (H.)
Specific activation of T lymphocytes from nude mice
Immunogen I975, I, 507-510

229 - RASKIN (H.F.), PLETICKA (S.)
Exfoliative cytology of the colon
Cancer I97I, 28 (1) 127-130

230 - REDDY (B.S.)
Dietary factors and cancer of the large bowel
Semin. Oncol. I976, 3 (4), 351-359

231 - REDDY (B.S.), COHEN (L.A.), Mc COY (G.D.) et al.
Nutrition and its relationship to cancer
Adv. Cancer Res. I980, 32, 237-345

232 - REICHMANN (A.), LEVIN (B.), MARTIN (P.)
Human large-bowel cancer : Correlation of clinical and histopathological features with banded chromosomes
Int. J. Cancer, I982, 29, 625-629

233 - REID (L.M.), HOLLAND (J.), JONES (C.) et al.
Some of the variable affecting the transplantation of human tumors into the nude mouse, in "Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice Cancer Res."
(D.P. HOUCHENS and A.A. OVEJERA Eds.)
Gustav Fischer N.Y., Stuttgart, I978, 107- 121

* 234 - REIF (A.E.), ALLEN (J.M.V.)
Specificity of isoantisera against leukemia and thymic lymphocytes
Nature (London) I963, 200, 1332

235 - REVAZOVA (E.S.)
Effect of chemotherapy on the growth of human gastrointestinal tumor strains
Vestn. Akad. Med. Nank. SSSR I980, 0, (11), 68-71

236 - RIVOSECCHI - MERLETTI (P.), GIOVANELLA (B.C.), BONMASSAR (E.)et al
Growth and inhibition of mouse or human tumors in "Nude" (athymic) mice monitored by the extent of 125-I-5-Iodo-2' Deoxyuridine (125 IUDR) uptake
Eur. J. Cancer I978, 14, 1057-1064

* 237 - ROELANTS (G.E.), LOOR (F.), VON BOEHMER (H.) et al.
Five type of lymphocytes (Ig - theta-, Ig-theta + weak, Ig-theta + strong, Ig + theta-, and Ig + theta +) characterized by double immunofluorescence and electrophoretic mobility. Organ distribution in normal and nude mice
Eur. J. Immunol. I975, 5 (2), 127-131

238 - ROELANTS (G.E.), MAYOR (K.S.), HAGG (L.B.) et al.
Ontogeny of T-lymphocytes studied in athymic and foetal mice
Adv. Exp. Med. Biol. I976, 66, 59-62

239 - RYGAARD (J.)
Immunobiology of the mouse mutant "nude" - Preliminary investigations
Acta Pathol. Microbiol. Scand. I969, 77, 761-762

* 240 - RYGAARD (J.)
Thymus and self : Immunobiology of the mouse mutant nude
Copenhagen FADL I973

241 - RYGAARD (J.)
The nude mouse : mouse or test tube ? in "Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice Cancer Res."
(D.P. HOUCHENS and A.A. OVEJERA Eds) - Gustav Fischer Verlag
N.Y. Stuttgart I978, 1-7

242 - RYGAARD (J.), POVLSEN (C.O.)
Heterotransplantation of a human malignant tumour to nude mice
Acta Pathol. Microbiol. Scand. I969, 77, 758-760

243 - RYGAARD (J.), POVLSEN (C.O.)
Athymic nude mice, in "The Mouse in Biomedical Research"
(H.L. FOSTER,J.D. SMALL, J.G. FOX Eds), vol. IV, Academic Press
N.Y. I982, 51-67

244 - SCHEID (M.P.), GOLDSTEIN (G.), BOYSE (E.A.)
Differenciation of T. cells in nude mice
Science I975, 190, 1211-1213

* 245 - SCHEID (M.P.), GOLDSTEIN (G.), HAMMERLING (U.)
Chemical synthesis of a peptide fragment of thymopoietin II that induces selective T-cell differenciation
Cell I975, 5, 367-370

246 - SCHEID (M.P.), HOFFMANN (M.K.), KOMURO (K) et al
Differenciation of T-cells induced by preparations from thymus and by nonthymic agents
J. Exp. Med. I973, 138, 1027-1032

247 - SCHEIN (P.)
Clinical presentations of gastrointestinal cancer, in "Cance
and Chemotherapy Introduction to Clinical Oncology" (CROOKE
PRESTAYKO Eds) - Academic Press, N.Y. vol. II, I98I, 113-117

249 - SCHEPARTZ (S.A.)
Screening
Cancer Chemoth. Rep. I97I, 2 (1), 3-8

250 - SCHILLACI (A.), NICOLANTI (V.), COSIMELLI (M.) et al.
The importance of CEA monitoring in the follow-up of patient
carcinoma of the large towel
Scand. J. Gastroenterol. I982, 17, 329

251 - SCHMIDT (M.), GOOD (R.A.)
Transplantation of human cancers to nude mice and effects of
thymus grafts
J. Natl. Cancer Inst. I975, 55, 81-87

252 - SCHMITZ (R.), SCHMITZ (C.A.), HUPER (J.) et al.
Adjuvant chemotherapy of human colorectal adenocarcinoma aft
growth on mice with congenital thymic dysplasia ("nude")
J. Cancer Res. Clin. Oncol. I980, 9, 715-721

* 253 - SHAGGER (C.N.), REOD (N.D.), JUTILA (J.)
Comparative survival of skin grafts from several donor speci
on congenitally athymic mice
Transplant. Proc. I973, 5, 711-716

254 - SHAPIRO (B.), CHAKRABARTY (M.), COHN (E.M.) et al.
Determination of circulating DNA levels in patients with beni
or malignant gastrointestinal disease
Cancer I983, 51, 2116-2120

255 - SHAPIRO (J.R.), YUNG (W-K.A.), SHAPIRO (W.R.)
Isolation, karyotype and clonal growth of heterogenous
subpopulations of human malignant gliomas
Cancer Res. I98I, 41, 2349-2359

* 256 - SHARKEY (F.E.), BAINES-GREBNER (M.) in "Proc. Int. Workshop Nude Mice" 3 (in press)

257a- SHARKEY (F.E.), FOGH (J.)
Incidence and pathological features of spontaneous tumors in athymic nude mice
Cancer Res. I979, 39, 833-839

257b- SHARKEY (F.E.), FOGH (J.)
Metastasis of human tumors in athymic nude mice
Int. J. Cancer, I979, 24, 733-738

258 - SHARKEY (F.E.), FOGH (J.), HADJU (S.I.) et al.
Experience in surgical pathology with human tumor growth in nude mice, in "The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research" (J. FOGH and B.C. GIOVANELLA Eds)
Academic Press, N.Y., I978, 187-214

259 - SHARKEY (F.E.), LOZZIO (B.P.), GIOVANELLA (B.C.) et al.
Spontaneous tumors in nude mice, in "The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research" (J. FOGH and B.C. GIOVANELLA Eds), vol. 2, Academic Press, N.Y., I982, 19-38

* 260 - SHERLOCK (P.)
The gastroenterologist and Gastrointestinal Cancer (Editorial)
Am. J. Digest. Dis. I974, 19, 933-934

261 - SHIMOSATO (Y.), KAMEYA (T.), HAYASHI (H.) et al.
Experimental Chemotherapy on human tumors transplanted in nude mice with particular reference to evaluation of results by tumor products, in "Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice Cancer Res." (D.P. HOUCHENS and A.A. OVEJERA Eds) - Gustav Fischer N.Y., I978, 195-205

262 - SHIMOSATO (Y.), KAMEYA (T.), NAGAI (K.) et al.
Transplantation of human tumors in nude mice
J. Natl. Cancer Inst. I976, 56, (6), 1251-1260

263 - SHIN (S.I.), KADISH (A.S.), BANCROFT (F.C.)
Host response to heterologue endocrine tumor - Transplants in nude mice, in "Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice Cancer Res." (D.P. HOUCHENS and A.A. OVEJERA Eds), Gustav Fischer N.Y., 1978, 133-143

* 264 - SILVERBERG (E.V.)
Cancer Statistics
Cancer J. Clin. I978, 28, (1), 17-32

265 - SILVERBERG (E.)
Cancer Statistics I98I
CA (New York) 31 (I), 13-43

* 266 - SLANEY (G.)
Results of treatment of carcinoma of the colon and rectum, in "Modern Trends in Surgery", vol. 3 (W.T. IRVINE Ed.) - Butter Worths London, I97I, 69-89

* 267 - SMITH (F.P.), COMBARERI (R.J.), KILLEN (J.Y.) et al.
Gastrointestinal Cancer, in "Cancer Chemotherapy" (H.M. PINEDO Ed. Excerpta Medica Amsterdam-Oxford I980, 284-298

268 - SORDAT (B.), FRITSCHE (R.) MACH (J.P.) et al.
Morphological and functional evaluation of human solid tumors serially transplanted in nude mice, in "Proc. 1st Int. Workshop Nude Mice" (J. RYGAARD and C.O. POVLSEN Eds), Gustav Fischer Verlag I974, 269-278

269 - SORDAT (B.), TAMAOKI (N.), POVLSEN (C.O.)
List of human tumors transplanted to nude mice, in "Proc. 2nd Int. Workshop on Nude Mice" (Nomura et al Eds) - University of Tokyo Press, Tokyo, and Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, I977, 587-595

270 - SORDAT (B.), UEYAMA (Y.), FOGH (J.)
Metastasis of tumor xenografts in the nude mouse, in "The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research" vol. 2 (J. FOGH and B.C. GIOVANELLA Eds), Academic Press, N.Y. I982, 95-143

* 271 - DE SOUSA (M.A.B.), PARROT (D.M.V.), PANTELOURIS (E.M.)
The lymphoïds tissues in mice with congenital aplasia of the thymus
Clin. Exp. Immunol. I969, 4, 637-644

272 - SPANG-THOMSEN (M.), NIELSEN (A.), VISFELDT (J.)
Growth curves of three human malignant tumors transplanted to nude mice
Exp. Cell. Biol. I980, 48, (2), 138-154

273 - SPANG-THOMSEN (M.), VISFELDT (J.)
Growth curves and radiation-induced synchronization of a human malignant melanoma transplanted to nude mice, in "Proc. 2nd Int. Workshop Nude Mice" (NOMURA et al Eds) - University of Tokyo Press - Tokyo, Gustav Fischer Verlag - Stuttgart, I977, 327-335

274 - SPRENT (J.), MILLER (J.F.A.P.)
Thoracic and lymphocytes from nude mice : migratory properties and life-span
Eur. J. Immunol. I972, 2, 384-387

275 - STUTMAN (O.)
Tumor Development in immunologically deficient nude mice after exposure to chemical carcinogens, in "Proc. 1st Int. Workshop Nude Mice" (J. RYGAARD and C.O. POVLSEN Eds), Gustav Fischer Verlag Stuttgart N.Y., I974, 257-264

276 - STUTMAN (O.) : Delayed tumour appereance and absence of regression in nude mice injected with murine sarcoma virus
Nature (London) I975, 253, 143

277 - SUNBLAD (A.S.), PAZ (R.A.)
Mucinous carcinomas of the colon and rectum and their relation to polyps
Cancer I982, 50, 2504-2509

278 - TALBOT (I.C.)
Pathology and natural history in "Recent Results in Cancer Research : Colorectal Cancer" Vol.83 (W. DUNCAN Ed.), Springer Verlag Berlin Heidelberg, I982, 59-66

279 - TAMURA (T.), KAI (C.), SAKAGUCHI (A.) et al.
The role of macrophages in the early resistance to mouse hepatitis virus infection in nude mice
Microbiol. Immunol. I979, 23, 965

280 - TERZ (J.J.), CURUTCHET (H.P.), LAWRENCE (W.)
Analysis of the cell kinetics of human solid tumors
Cancer, I97I, 28, 1100-1110

281 - TESTART (J.)
Cancer des côlons
Cahiers Intégrés de Médecine : Gastroentérologie N° 17, I97I, 31, 113-121

282 - THEODORE (C.)
Les cancers colo-rectaux
Pratique Médicale I983, 18, 11-25

283 - THURMAN (G.B.), SILVER (B.B.), HOOPER (J.A.) et al.
In vitro mitogenic responses of spleen cells and ultrastructural studies of lymph nodes from nude mice following thymosin administration in vivo, in "Proc. Ist Int. Workshop Nude Mice" (J. RYGAARD and C.O. POVLSEN Eds), Gustav Fischer Verlag Stuttgart, N.Y., I974, 105-119

284 - THURMAN (G.B.), ULRICH (J.T.), AHMED (A.) et al.
Thymosin studies in athymic (nude) mice, in "Proc. Symp. Use Athymic Nude Mice Cancer Res." (D.P. HOUCHENS and A.A. OVEJERA Eds) Gustave Fischer Verlag, Stuttgart N.Y., I978, 63-72

* 285 - TIMONEN (T.), RANKI (A.), SAKSELA (E.) et al.
Human natural cell-mediated cytotoxicity against foetal fibroblasts. III : Morphological and characterization of the effector cells
Cell. Immunol. I979, 48, 121-132

* 286 - TIMONEN (T.), SAKSELA (E.), RANKI (A.) et al.
Fractionation, morphological and functional characterization of effectors cells responsable of human natural killer activity against cell-line targets
Cell. Immunol. I979, 48, 133-148

* 287 - TRAININ (N.)
Thymic hormones and the immune response
Physiol. Rev. I974, 54, 272-315

288 - TUYNS (A.J.), PEQUIGNOT (G.), GIGNOUX (M.) et al.
Cancers of the digestive tract, alcohol and tobacco
Int. J. Cancer, I982, 30, 9-11

289 - UTSUNOMIYA (J.), MAKI (T.), IWAMA (T.) et al.
Gastric lesion of familial polyposis coli
Cancer I974, 34, 745-754

* 290 - UTSUNOMIYA (J.), NAKAMURA (T.)
The occult osteomatous changes in the mandible of patients with familial polyposis coli
Br. J. Surg. I975, 2, 45-51

291 - VATN (M.H.), MYREN (J.), HAVIK (O.) et al
A Histochemical study of dehydrogenase activity in carcinoma of the colon
Scand. J. Gastroenterol. I982, 17, 329

* 292 - VERLY (W.G.), BRAKIER (L.)
Mecanisme moleculaire de l'action toxique des agents alkylants
Rev. Eur. D'Etudes Clin. Biol. I970, 15, 483-488

293 - WAGNER (H.), HARDT (C.), HEEG (K.) et al
T-cell derived helper factor allows in vivo induction of cytotoxic T-cells in nu/nu mice
Nature (London) I980, 284, 278-280

* 294 - WALFORD (R.L.)
The general immunology of aging
Adv. Geront. Res. I967, 2, 159-204

295 - WEBER (G.), HAGER (J.C.), LUI (M.S.) et al.
Biochemical programs of slowly and rapidly growing human colon carcinoma xenografts
Cancer Res. I98I, 41, 854-859

296 - WEISBURGER (J.H.)
Colon carcinogens : Their metabolism and mode of action
Cancer I97I, 28 (1), 60-70

* 297 - WELIN (S.), YOUKER (S.), SPRATT (J.S. Jr)
The rates and patterns of growth of 375 tumors of the large intestine and rectum observed serially by double contrast enema study (Malmö Technique)
Am. J. Roentg. I963, 90, 673-687

298 - WHEELER (G.P.)
Mechanisme of action of Nitrosoureas in "Antineoplastic and Immunosuppresive agents"
Springer Verlag Berlin Heidelberg, I975, 2, 65-84

299 - WHITEHOUSE (J.M.A.)
Chemotherapy, in "Recent Results in Cancer Research : Colorectal Cancer" vol. 83 (W. Duncan Ed.), Springer Verlag Berlin Heidelberg I982, 126-134

300 - WINAWER (S.J.), LEIDNER (S.D.), BOYLE (C.)
Comparison of flexible sigmoïdoscope with other diagnostic techniques in the diagnosis of rectocolon neoplasma
Dig. Dis. Sci.I979, 24, 277-281

301 - WOLMARK (N.), CRUZ (I.), REDMOND (C.K.) et al.
Tumor size and regional lymph. node metastasis in colorectal cancer, a preliminary analysis from the NSABP clinical trials
Cancer I983, 51, (7), 1315-1322

* 302 - WOOD (D.A.)
Tumors of intestine
Atlas of tumor path., Armed Forces Institute of Pathology, Washington D.C., I967, 22, 161

303 - WORTIS (H.H.)
Immunological responses of "Nude" mice
Clin. Exptl. Immunol. I97I, 8, 305-317

304 - WYNDER (E.), SHIGEMATSU (T.)
Environmental factors of cancer of the colon and rectum
Cancer I967, 20, 1520-1561

306 - ZEITOUN (P.), SALAS (H.)
Les traitements non chirurgicaux des cancers coliques : chimiothérapie, immunothérapie, radiothérapie
Rev. Praticien I979, 29 (13) 1139-1145

305 - ZEITOUN (P.), LIRZIN (P.)
Chimiothérapie des carcinomes du tube digestif
Pratique Med. I983, 18, 49-50

307 - ZIRVI (K.A.), VAN DER BOSCH (J.), KAPLAN (N.O.)
In vitro responses of nude mouse xenografted with human colon carcinomas exposed to Doxorubicin Derivatives in Tissue culture and in the mouse
Cancer Res. I982, 42, 3793-3797

ADDENDUM

308 - GIOVANELLA (B.C.) STEHLIN (J.), SHEPARD (R.C.) et al
Correlation between response to chemotherapy of human tumors in patients and in nude mice
Cancer I983, 52, 1146-1152

309 - DAVIS (H.L.)
Chemotherapy of large bowel cancer
Cancer I982, 50, 2638-2646

301 - WOLMARK (N.), CRUZ (I.), REDMOND (C.K.) et al.

Tumor size and regional lymph node metastasis in colorectal cancer, a preliminary analysis from the NSABP clinical trials

Cancer 1983, 51, (7), 1315-1322

302 - WOOD (F.A.)

Tumors of intestine

Atlas of tumor path., Armed Forces Institute of Pathology, Washington D.C., 1957, 22, 161

303 - NORTIS (H.H.)

Immunological responses of "Nude" mice

Clin. Exptl. Immunol. 1971, 8, 305-317

304 - WYNDER (E.), SHIGEMATSU (I.)

Environmental factors of cancer of the colon and rectum

Cancer 1967, 20, 1520-1561

305 - ZELTOUN (P.), SALAS (H.)

Les traitements non chirurgicaux des cancers coliques : chimiothérapie, immunothérapie, radiothérapie

Rev. Praticien 1979, 29 (13) 1139-1145

306 - ZELTOUN (P.), LIKEIN (P.)

Chimiothérapie des cancromes du tube digestif

Pratique Med. 1983, 18, 49-50

307 - ZIRVI (K.A.), VAN DER BOSCH (J.), KAPLAN (H.O.)

In vitro response of nude mouse xenografted with human colon carcinomas exposed to Doxorubicin Derivatives in Tissue culture and in the mouse

Cancer Res. 1982, 42, 3793-3797

ADDENDUM

308 - GIOVANELLA (B.C.) STEHLIN (J.), SHEPARD (R.C.) et al

Correlation between response to chemotherapy of human tumors in patients and in nude mice

Cancer 1983, 52, 1146-1152

309 - DAVIS (H.L.)

Chemotherapy of large bowel cancer

Cancer 1982, 50, 2638-2646